

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen
Krankenhauses Neukölln

Ärztl. Direktor: Professor Dr. med. Klaus H o l l d a c k

DIE PEROXYDASEREAKTION
IN DER
KNOCHENMARKKULTUR

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Eckhart Schwehofer
aus Oranienburg

1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen
Krankenhauses Neukölln

Ärztl. Direktor: Professor Dr. med. Klaus Holldack

DIE PEROXYDASEREAKTION
IN DER
KNOCHENMARKKULTUR

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Eckhart Schweihöfer

aus Oranienburg

Dekan: Professor Dr.med. Hans Heinz Naumann
Referent: Priv.Do. Dr.med. Irene Boll
Korreferent: Professor Dr.med.Horst Brücher



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 14. Mai 1969

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
I. Einleitung und Fragestellung	5
II. Methodik	
a. Herstellung der Präparate	11
b. Auswertung der Präparate	16
III. Ergebnisse	
a. Einzelergebnisse	22
b. Zusammenfassung der Ergebnisse	53
c. statistische Auswertung	57
IV. Diskussion	59
V. Zusammenfassung	68
VI. Literaturverzeichnis	69

I. Einleitung und Fragestellung

"Peroxydasen sind Eisenhämatinverbindungen, die die Oxydation zahlreicher Phenole und aromatischer Amine durch Wasserstoff-superoxyd katalysieren" (MERKER 1968). Im Vergleich zu der sehr labilen Cytochromoxydase (Warburg's Atmungsferment) verhalten sich die Peroxydasen gegenüber Inaktivierung durch Trocknung, Hitze oder chemische Behandlung relativ widerstandsfähig (GRAUMANN u. NEUMANN 1960). Sie sind in die Granulafraktion der Neutrophilen lokalisiert und lassen sich dort biochemisch nachweisen (TAKIKAWA u.a. 1962).

Die Darstellung der Peroxydasen ist eine der ältesten zytochemischen Reaktionen. Der Nachweis mit Hilfe der Benzidinmethode geht zurück auf das Jahr 1904 (ADLER zit. nach UNDRITZ 1963). 1907 fand WINKLER, daß durch die Nadi-Reaktion (α -Naphthol und Dimethyl-p-phenylendiamin) die im Zytoplasma vorhandenen Leukozytengranula zur Darstellung gebracht werden können. Auch die Leukofarbstoffmethode (LISON 1936) oder die Thioindoxylmethode (PEARS 1954) können Verwendung finden (zit. nach MERKER 1968). Die Benzidinmethode erfuhr eine große Anzahl von Modifikationen: Von praktischer Bedeutung sind die Methoden nach GRAHAM (1926), KNOLL (1932) und SATO-SEKIYA (1926). Bei der Methode nach MIELKE (1925) wird das in bestimmter Konzentration schwer haltbare H_2O_2 durch das stets gleichbleibende Bariumsuperoxyd ersetzt. MOSCHKOWSKI hat 1929 eine vereinfachte Methode angegeben, bei welcher bei der Fixierung zugunsten von hochprozentigem Äthylalkohol auf Formalin verzichtet wird; 1930 beschrieb er eine simultane Giemsa-Benzidin-Färbung. UNDRITZ (1963) hat sich um die Darstellung der Peroxydase sehr verdient gemacht. Außer einer Arbeitsanweisung zu der Methode nach GRAHAM-KNOLL gab er Modifikationen an zur besseren Darstellung der Monozyten, Eosinophilen und der Auer-Stäbchen. Weitere Modifikationen stammen von DARANYI (1958) und LEDER (1967). Der letztgenannte Autor

verzichtet auf eine Fixation und verwendet ein alkoholfreies Reaktionsgemisch mit Azeton und DMSO als Lösungsmittel für Benzidin.

Im Knochenmark gesunder Personen läßt sich die Peroxydase in den neutrophilen und eosinophilen Leukozyten und ihren Vorstufen bis zu den Promyelozyten nachweisen. Die Basophilen zeigen keine konstante POX-Reaktion. Peroxydasen negativ sind die jugendlichen Myeloblasten und alle Lymphoblasten, Lymphozyten, Plasmazellen und Megakaryozyten. In den meisten Fällen zeigen die Monozyten, die zum Teil positiv reagieren, eine schwächere Anfärbbarkeit. Bei den verschiedenen Autoren besteht keine Übereinstimmung darüber, wie die Peroxydase in die Monozyten gelangt sein kann. Die eine Gruppe (KNOLL 1932, FREIFELD und GINSBURG 1928/29, UNDRITZ 1952) ist der Ansicht, daß die Monozyten an und für sich peroxydasen negativ sind und daß die bei einem Teil positive Reaktion auf eine Phagozytose peroxydase positiver neutrophiler und eosinophiler Granulozyten zurückgehe. UNDRITZ (1963) erklärt damit auch die Phänomene bei einer Monozytenleukämie: 85-95 % der Monozyten sind peroxydasen negativ, da diese wie alle Karzinomzellen funktionell minderwertig und somit zu einer Phagozytose nicht befähigt sind. Die andere Gruppe (LEDER 1967 u. a.) sieht in der Peroxydaseaktivität der Monozyten eine Eigenschaft dieser Zellen selbst und leitet daraus die myeloische Genese der Monozyten ab. Nach LEDER nimmt die Peroxydaseaktivität der Monozyten zu, je weiter man sie in ihrer Entwicklung zurückverfolgt; junge Monozyten erreichen sogar die starke Peroxydasepositivität der Promyelozyten. Nach der Einführung der Peroxydasereaktion meinte man, in dieser Reaktion ein geeignetes Mittel zu besitzen, Zellen myeloischen Ursprungs von denen lymphatischen Ursprungs zu unterscheiden. Enttäuschend war daher, daß sämtliche Blasten negativ reagieren. Zu Unrecht geriet die Reaktion dadurch in Mißkredit. Es gibt

Fragestellungen, bei denen die Peroxydasereaktion zusammen mit anderen Reaktionen unerlässlich ist:

a) Zur eindeutigen Differenzierung der Monozyten hat UNDRITZ eine Lagerung der Präparate für 30 - 40 Tage angegeben; nach der anschließenden Peroxydasefärbung auf die übliche Art und Weise sollen Zellen, die für Monozyten verdächtig sind, eine negative Reaktion zeigen, während die Neutrophilen noch stark pox-positiv sind. Praktische Bedeutung gewinnt diese Modifikation der POX-Färbung zur Erkennung von Monozytosen, bei Agranulozytosen und zur Unterscheidung reaktiver Monozytosen von Leukämien. Zuweilen beginnen Leukämien mit einer reaktiven Monozytose mit stark pox-positiven Monozyten; später entwickeln sich mehr und mehr neutrophile Promyelozyten mit den für die Promyelozytenleukämie so charakteristischen Auer-Stäbchen.

b) Eine Differenzierung zwischen akuten myeloischen und lymphatischen Leukosen ist nur dann möglich, wenn es sich nicht im Sinne von UNDRITZ um Neutrophiloblasten handelt, die noch keine Peroxydase-Reaktion ergeben, sondern wenn bereits einige azurophile peroxydasepositive Granula im Protoplasma vorhanden sind, es sich also um neutrophile Promyelozyten-Leukosen handelt. Anstelle dieser Progranulation gibt es zwei Äquivalente mit gleicher Aussagekraft:

1. azurophile peroxydasepositive Auer-Stäbchen,
2. eine ungranulierte, diffuse, azurophile, peroxydasepositive Zone (UNDRITZ 1963).

Zum Nachweis der Auer-Stäbchen eignet sich besonders die Modifikation der Peroxydasereaktion von UNDRITZ (1965); im Gegensatz zur Originalmethode wird dabei die Gegenfärbung nur ganz schwach ausgeführt.

c) Zur besseren Darstellung der Eosinophilen bei starken Eosinophilien in Blut und Knochenmark, z.B. bei der ALDER'schen Anomalie, nimmt man den Inaktivierungsvorgang der Neutro-

philen durch eine kräftige Alkoholfixation vorweg, da nach UNDRITZ die Eosinophilen gegenüber Alkohol widerstandsfähiger sind.

d) Das sukzessive Inaktivwerden peroxydasepositiver Zellen im Laufe der Zeit kann forensisch genutzt werden zur Altersbestimmung von Blutzellen (UNDRITZ 1963).

Der Peroxydasegehalt der einzelnen Zellen ist von vielen Faktoren abhängig. So wurden partielle wie auch totale Peroxydasedefekte in der neutrophilen Reihe nachgewiesen. Bei der Promyelozytenleukämie kann ein partieller Peroxydasedefekt in der Abgrenzung zu Monozyten Schwierigkeiten bereiten. Es spricht für das Vorliegen einer Promyelozytenleukämie, wenn der Defekt bis zu den reifsten Stufen verfolgt werden kann. Als ALIUS-GRIGNASCHI-Syndrom wurde ein totaler konstitutioneller Peroxydaseschwund der Zellen der Granulopoese und der Monozyten beschrieben (UNDRITZ 1966). 1926 konnte SATO mit seiner Färbemethode bei gewissen klinischen (Encephalitis Economo) und experimentellen Veränderungen am Boden des III. Ventrikels eine negative Peroxydasereaktion bei allen myeloischen Zellen im Knochenmark und im peripheren Blut nachweisen. 1965 beschrieb er unter der Bezeichnung ARAKAWA-HIGASHI-Syndrom eine Krankheit, bei der 50% oder mehr der Neutrophilen vollständig pox-negativ sind, während der Rest normal reagiert. Die POX-Aktivität erscheint bei Panmyelopathien häufig fast negativ (HEILMEYER UND BEGEMANN 1951). Eine Verminderung des POX-Gehaltes eventuell bis zum Schwund kommt weiterhin bei chronischen Myelosen nach Urethanbehandlung oder nach Röntgenbestrahlung vor (BOCK und GROSS, SCHILLING 1924 zit. nach HERTL 1966).

Schon 1930 wies STOCKINGER auf die Verminderung der pox-positiven Granula bei schweren Infektionen mit toxischen Zeichen und bei Neoplasien hin (zit. nach DENES 1958). SEABRA (1955) beschrieb aufgrund morphologischer Untersuchungen die physiologische Effusion der Peroxydase aus einzelnen neutrophilen

Granula. Als Zeichen der Instabilität der Neutrophilen-Peroxydase kommt es zur Hypereffusion in Stressituationen, bei vermindertem atmosphärischem Druck, zunehmendem Lebensalter und bei der Hyperthyreose, während bei Hypothyreose der POX-Gehalt in den Granulozyten erhöht ist. DENES (1958) gibt im Gegensatz dazu im hohen Lebensalter eine vermehrte Granulation der Leukozyten an. Bei Eintritt einer Kachexie soll sich entsprechend dieser letztgenannten Arbeit eine Verminderung des Fermentgehaltes und eine morphologische Umwandlung der Granula ergeben. HENNING u.a. konnten 1963 feststellen, daß bei Stressituationen durch Leukozytenzerfall die Myeloperoxydase im Serum ansteigt.

Quantitative Aussagen über den Peroxydasegehalt in Knochenmarkszellen und in Zellen des peripheren Blutes sind in der Literatur nur spärlich zu finden. GRAHAM hat bezüglich der Stärke der pox-positiven Reaktion in den neutrophilen Zellen des peripheren Blutes Gruppen von 1 bis 4 unterschieden. Bei Infektionskrankheiten soll gegenüber normalen Verhältnissen eine Verschiebung der Gruppen auftreten; Gruppe 1 und 2 mit ihren niedrigen POX-Werten sollen dabei an Zahl zunehmen. Bei Anwendung derselben Färbung konnte MIELKE (1925) bei Tuberkulosefällen diese Angaben nicht bestätigen. Im Rahmen einer Untersuchung über den Einfluß der Temperatur auf die Peroxydasereaktion der Blutzellen hat TSUKAMOTO (1952 a) einen Peroxydase-Index eingeführt, der Stufen von 0 bis 3 berücksichtigt; es wurde dabei die NAS-Benzidin-Methode angewendet. Der mittlere Index wurde auf 200 Leukozyten bezogen. 1955 führte SEABRA unter Benutzung der LOELE-SEABRA-Methode einen weiteren Peroxydase-Index mit Stufen von 0 bis 6 ein. Dieser Index ist auf die Anzahl der Leukozyten in 1 ml bezogen. KATSUSHIMA beschrieb 1963 (a) eine kolorimetrische Methode für die quantitative Bestimmung der Peroxydase in einzelnen myeloischen Zellen des Blutes.

Unter Anwendung einer neuen Modifikation der SPST-Methode (shortest-peroxidase-stain-time) für Blutleukozyten auf

der Grundlage von SATO-SEKIYA's Färbung konnte HIGASHI 1966 exakte quantitative Angaben über den POX-Gehalt der neutrophilen und der eosinophilen Granulozyten und der Monozyten bei 10 Patienten machen. Das Prinzip dieser Reaktion beruht auf der Tatsache, daß die SPST sich umgekehrt proportional zur Konzentration des Enzyms verhält.

Der Zweck dieser Arbeit ist es, quantitative Aussagen über das Verhalten der Peroxydase in den Zellen des Knochenmarkes und der Knochenmarkkulturen unter verschiedenen experimentellen Bedingungen und bei unterschiedlichen Erkrankungen zu erarbeiten.

II. Methodik

a. Herstellung der Präparate

Kultur:

Zur Kultivierung benutzen wir nach BOLL (1966), modifiziert nach FIESCHI und ASTALDI (1941) ein Medium, das aus folgenden Anteilen besteht:

50% Nativ-Humanplasma

10% Corhormon (Extrakt aus embryonalen Schweineherzen)

40% Hanks-Lösung

Nativ-Humanplasma und Serum werden möglichst von demselben Patienten gewonnen, dessen Sternalmark kultiviert werden soll. 1 - 6 Stunden nach dieser Blutentnahme erfolgt die Sternalpunktion. Ein Teil der aspirierten Markbröckchen wird möglichst blutfrei auf Objektträger ausgestrichen und nach GRAHAM-KNOLL gefärbt (s.u.). Der andere Teil der Knochenmarkbröckchen wird in ein mit Heparin-Lösung gefülltes Blockschälchen überführt und in einer Petrischale steril verschlossen. Das Medium wird nun in Zentrifugengläsern gemischt. Die großen, auf Objektträgern ausgebreiteten Tropfen gerinnen innerhalb weniger Minuten. Ein Knochenmarkbröckchen wird darauf gesetzt und mit einem kleinen Serumtröpfchen bedeckt. Die umgedrehte Kultur wird mit Paraffin luftdicht verschlossen. Es folgt die Inkubation im Brutschrank bei 37°. Nach 24, 48 und 72 Stunden werden Zellausstriche angefertigt; dabei ist ein ausgewanderter Zellanteil vom ursprünglichen Knochenmark zu unterscheiden. Die Zellausstriche werden getrocknet, fixiert und gefärbt.

In einer anderen Versuchsanordnung wird der Einfluß von Kälte auf die Peroxydase untersucht. Dabei werden die Kulturen nach der Fertigstellung für 1 bzw. 5 Stunden bei + 7° auf-

bewahrt; ~~danach~~ erfolgt wie bei der Standardmethode die Inkubation im Brutschrank bei 37°.

Färbetechnik:

Die Färbung erfolgte nach der Originalmethode von GRAHAM-KNOLL in Anlehnung an eine Arbeitsanweisung von UNDRITZ (1952). Da für unsere Fragestellung differenzierte quantitative Aussagen erforderlich sind, mußte die Färbung so gestaltet werden, daß eine eindeutige Differenzierung der einzelnen Zelle und exakte quantitative Aussagen möglich sind. Bei den in der Literatur angegebenen Färbemethoden erfolgt die Darstellung der Peroxydase meist so intensiv, daß die Unterscheidung z.B. zwischen peroxydasepositiven Promyelozyten und Monozyten eventuell auch Myelozyten Schwierigkeiten bereitet. Um zu einer Färbetechnik mit befriedigendem Ergebnis zu kommen, wurden vergleichende Färbungen durchgeführt.

A. Einfluß der Fixation auf die Peroxydasefärbung

Als Fixationsmittel kommen in Betracht:

1. Methanol
2. Äthanol 90%
3. Formaldehyd 35%
4. Azeton
5. eine Mischung aus 2 und 3

1. Methanol

Bei Fixationszeiten von über 2 min ist die Peroxydasereaktion in den Granulozyten negativ. Auch eine verlängerte Inkubationszeit mit dem Benzidinreagenz ergibt keine Anfärbung mehr.

2. Äthanol

Entsprechend der Länge der Fixationszeit ändert sich die Intensität der Färbung. Wir testeten die Fixationszeiten von 30 sec bis 30 min und konnten bei gleicher Inkubation von 5 min eine unverändert gute Anfärbbarkeit der peroxydase-positiven Granula feststellen.

	Neutrophile	Eosinophile
30''	+	+
1'	+	+
10'	+	+
20'	+	+
30'	+	+
6h	(+)	(+)
24h	-	(+)

Nach SASAKI (1952) erfolgt nach 6-stündiger Fixationszeit mit Äthanol eine nur sehr schwache Anfärbung der Neutrophilen und Eosinophilen. Die Hemmwirkung ist nach 24 Stunden bei den Neutrophilen komplett; die Eosinophilen sind der Alkoholfixation gegenüber etwas widerstandsfähiger als die Neutrophilen (TSUKAMOTO 1952 b).

3. Formaldehyd

Wir testeten Fixationszeiten von 30 sec bis 30 min bei Inkubationszeiten von 1,2 und 5 min und fanden bei einer Inkubationszeit von 1 min und verschiedenen Fixationszeiten eine negative POX-Reaktion; nach Inkubationszeiten von 2 und 5 min stellte sich die Peroxydase dar.

Fix.zeit. <i>Inkub.zeit</i>	30''	3'	30'
1'	-	-	-
2'	+	+	+
5'	+	+	+

4. Azeton

In seiner Wirksamkeit ist Azeton mit Äthylalkohol zu vergleichen.

5. Nach den Ergebnissen 1-4 verwenden wir bei der Fixation unserer Präparate eine Mischung von Äthanol und Formaldehyd im Verhältnis 9 : 1.

B. Einfluß der H_2O_2 -Konzentration auf die POX-Färbung

Es wurde bei konstanter Inkubationszeit von 5 min der H_2O_2 -

Zusatz zum Benzidin-Alkohol-Gemisch variiert. Bei einer Benzidin-Alkohol-Lösung von 10 ml wurden steigende Mengen von 3%iger H_2O_2 -Lösung (0,02 ml - 3,0 ml) zugegeben. Bereits bei Zugabe von 0,5 ml H_2O_2 konnten wir eine schwächere Anfärbbarkeit der neutrophilen Granulozyten beobachten, bei 1,5 ml waren Neutrophile wie Eosinophile peroxydasenegativ. Die Peroxydasefärbung der Erythrozyten wird nach TSUKAMOTO (1952 b) erst bei einem Mischungsverhältnis der Benzidin-Lösung mit 3%iger H_2O_2 -Lösung = 1 : 1 positiv. Dabei sollen alle Leukozyten negativ sein.

C. Einfluß der Benzidin-Konzentration auf die POX-Färbung

Die Angaben über die notwendigen Mengen von Benzidin schwanken in der Literatur erheblich (von "einigen Benzidinkristallen" bis zu "Messerspitze voll"). Die besten Erfolge hatten wir mit 250 mg Benzidin gelöst in 36 ml 90%igem Äthylalkohol. Um eine negative Reaktion zu vermeiden, erwies sich eine Verdünnung des Alkohols durch Zugabe von 24 ml Aqua dest. als notwendig.

Unsere endgültige Färbung erfolgte folgendermaßen:

a) Reagentien:

1. Formalin-Alkohol (10 Teile Formalin 35% auf 90 Teile Äthylalkohol 96%)
2. Peroxydasereagenz: 250 mg Benzidin in 36 ml 96%igem Äthylalkohol auflösen; 6 ml dieser Benzidin-Alkohol-Lösung mit 4 ml Aqua dest. verdünnen;
3. 0,02 ml einer 3%igen H_2O_2 -Lösung zusetzen.
Wir stellten das Peroxydasereagenz vor jeder Färbung neu her. Nach Zugabe von H_2O_2 muß die Lösung mindestens 30 min stehen.

b) Ausführung der Färbung:

Fixation der luftgetrockneten Präparate in Formalin-Alkohol für 5 min;
gründlich mit Aqua dest. spülen bis keine Schlieren mehr vorhanden sind;
Peroxydasereagenz für 5 min;
gut mit Aqua dest. spülen;
Gegenfärbung mit Giemsa 1 : 20 für 20 min;
Lufttrocknen.

Nach Gewinnung des letzten Kulturpräparates eines Sternalpunktates wurde jeweils die gesamte Serie in einem Arbeitsgang gefärbt.

Insgesamt wurden die Originale und Kulturpräparate von 35 Patienten gefärbt. Für unsere Betrachtungen wurden 13 Fälle herangezogen.

2. Auswertung der Präparate

Vor der Differenzierung des Knochenmarkausstriches orientiert man sich bei schwacher Vergrößerung über die Zelldichte, den Zellaufbau und den Fettgehalt des Präparates. Mit der Ölimmersionsvergrößerung werden nun gut erhaltene, gleichmäßig gefärbte Stellen ausgesucht. Da sich erfahrungsgemäß in den Randzonen der Präparate im Verhältnis zum Mittelstück meist reife- und besser differenzierbare Zellen befinden, werden zweckmäßigerweise in beiden Gebieten die Zellen gezählt, indem man das Präparat mäanderförmig durchmustert. Insgesamt werden 1000 Zellen der Granulopoese ausgezählt und in Prozent angegeben. Entsprechend der Fermentaktivität werden die Zellen den Stufen 0 bis 4 zugeordnet. Die einzelnen Stufen sind folgendermaßen gekennzeichnet:

Stufe 0: keine Reaktion

Stufe 1: wenige gelbe bis braune Granula im Zyto-
zentrum

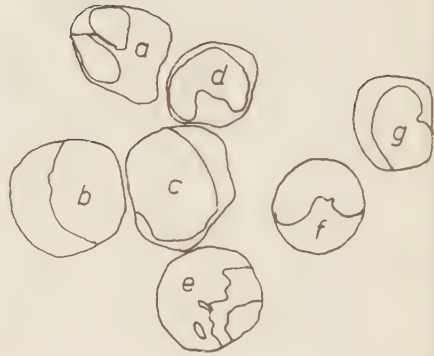
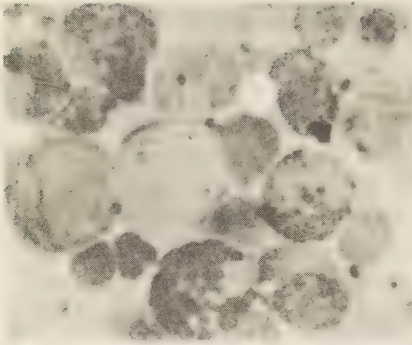
Stufe 2: die Zelle enthält zur Hälfte Granula

Stufe 3: die ganze Zelle ist diffus mit locker gesä-
ten Granula angefüllt

Stufe 4: homogene Ausfüllung der gesamten Zelle mit
dunkelbraunen Granula

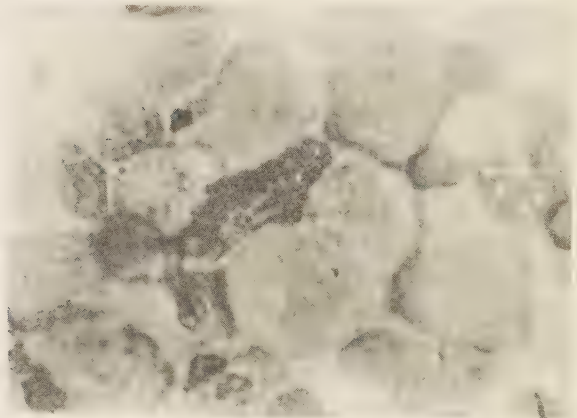
Zunächst bestimmt man das Produkt aus Zellzahl und Stufe und erhält damit die Fermenteinheiten pro Stufe. Die Summe der Fermenteinheiten sämtlicher 5 Stufen wird dividiert durch die Gesamtzahl der Zellen einer Art. Der somit erhaltene mittlere Peroxydase-Index einer Zelle, der sich zwischen 0 (keine Fermentaktivität) und 4 (maximale Fermentaktivität) bewegen kann, stellt ein Maß für die Fermentaktivität einer Zellart dar.

Bei der Peroxydasefärbung haben die Kriterien, die bei der panoptischen Färbung nach Pappenheim Anwendung finden, nur bedingt Gültigkeit. So ist z.B. bei starker Peroxydasepositivität eine Beurteilung der Reaktion des Protoplasmas nicht möglich.



Originalpräparat (Fall 1)

- a. Segmentkerniger (St.4) b. Myelozyt (St.3)
c. Myeloblast (St.0) d. Metamyelozyt (St.0)
e. eos. Segmentk. (St.4) f. Stabk. (St.4)
g. Myelozyt (St.1)



Kulturpräparat (48 Stunden, Fall 1)

In der Mitte 1 Eosinophiler (St.4)

darum mehrere neutroph. Vorstufen (St. 1 u. 2)

Da bei unserer Färbemethode der Kern so gut wie nie von pox-positiven Granula bedeckt ist, muß das Augenmerk besonders auf die Kernstruktur, - form, - grösse und die Kern-Plasma-Relation gerichtet werden.

Zur Differenzierung gelten somit folgende wichtige Kriterien:

1. Myeloblast

Man bezeichnet als Myeloblast (Hämozytoblast FERRATA, Neutrophiloblast UNDRITZ (zit. nach ROHR)) die Stammzelle der Granulozyten. Sein großer, meist runder Kern besitzt ein deutliches, engmaschiges und feinfädiges Chromatingerüst, das meist 2 - 5 gut sichtbare, begrenzte Nukleolen erkennen läßt. Seine Struktur ist so wenig unterschiedlich in der Dichte, daß man ihn wie durch Milchglas sieht (SIEBERT). Der Kern füllt die Zelle weitgehend aus, so daß nur ein schmaler, basophiler Plasmasaum sichtbar ist. Dem Myeloblasten fehlt jede azurophile Granulation. Das Kern-Plasma-Verhältnis ist zugunsten des Kerns verschoben. Man findet häufig eine Aufhellung des basophilen Plasmas neben dem Kern, das sog. Zytozentrum. Myeloblasten sind nur spärlich im normalen Mark vorhanden (0,5 bis 2%).

Sofern die Myeloblasten überhaupt Peroxydasepositivität zeigen, ist diese sehr gering (St. 1); die Differenzierung wird dadurch in keinem Fall erschwert. Nach ROHR läßt der ungranulierte Myeloblast im Dunkelfeld und im Phasenkontrastmikroskop in geringer Zahl Mitochondrien erkennen, die mitunter eine leicht positive POX-Reaktion ergeben.

2. Promyelozyt

Er ist die größte Zelle der Granulopoese. Er zeichnet sich im Gegensatz zum Myeloblasten durch Verbreiterung des Protoplasmas und Entrundung des Kernes aus. (Mittleres Kern-Plasma-Verhältnis 1 : 3). Sein Durchmesser schwankt um 16 μ und er besitzt in dem meist gebuchteten oder ovalen Kern, der zart und eintönig ist, auffallend große Nukleolen. Die Struktur des Kernes ist dunkler und dichter als die des Myeloblasten. Das sonst basophile Plasma beginnt besonders im Zytozentrum sich neutrophil aufzuhellen.

Da in den meisten Fällen die Peroxydasereaktion stark positiv ausfällt (St. 3-4), ist die Farbe des Plasmas nicht sicher zu beurteilen. Bei unserer Färbung kann die azurophile Granulation nicht von den pox-positiven Granulationen getrennt werden.

3. Myelozyt

Während der ovale Kern der Promyelozyten noch die Kernkörperchen wie der Myeloblast trägt, verlieren sich beim Übergang zum Myelozyten diese Kerneigentümlichkeiten der Zellen. Der Zellkern nimmt nach Verlust der Nukleolen eine gröbere und dichtere Chromatinstruktur an. Gleichzeitig macht sich eine zunehmende Neigung zur nierenförmigen Kerneinbuchtung bemerkbar. Die Myelozyten sind erheblich kleiner als die Promyelozyten; sie haben jedoch eine ähnliche Kern-Plasma-Relation. Die azurophile Plasmagranulation der Promyelozyten hat sich im Pappenheim-Präparat entweder zu einer nicht anfärbbaren neutrophilen Granulation, zu einer grobkörnigen eosinophilen oder zu

einer plumpen, Kern und Plasma weitgehend verdeckenden, basophilen Granulation entwickelt. Die Granulationen sind beim Myelozyten reichlicher vorhanden als beim Promyelozyten. Das Zytoplasma hat vom basophilen zum oxyphilen Farbton gewechselt. Eine Einteilung in unreife und reife Formen bleibt bei unserer Färbung unberücksichtigt.

4. Metamyelozyt.

Der Metamyelozyt hat einen stärker eingebuchteten, schmalen und grobscholligen Kern mit scharf gezeichneter Kontur. Das Plasma erscheint nun deutlich azidophil und die Granulation ist fertig ausgereift.

5. Stabkernige.

Als stabkernig wird eine Zelle bezeichnet, deren Kern sich hufeisenförmig, schmaler und gröber strukturiert darstellt. Insgesamt ist die Zellgröße geringer.

6. Segmentkernige.

Werden die Einschnürungen schmaler als $\frac{1}{3}$ der Kernsegmente, so wird die Zelle als segmentkernig bezeichnet. Ihr Durchmesser schwankt zwischen 10 und 15 μ und der Kern erscheint dicht strukturiert und dunkelviolet. Die meisten Segmentkernigen haben 2 bis 3 Brücken, sie bestehen also aus 3 bis 4 Segmenten. Die neutrophilen Granula heben sich von der azidophilen Zytoplasmafärbung kaum ab.

Die POX-Färbung fällt bei den Myelozyten und den reifen Zellen der Granulopoese (4-6) meistens stark positiv aus (St. 3-4). Aufgrund der Kernstruktur und der Kernform, die immer deutlich sichtbar sind, und der Größe der Zellen gibt es keine Differenzierungsschwierigkeiten.

Eine eindeutige Unterscheidung zwischen neutrophilen und eosinophilen Zellen der Granulopoese beruht auf folgenden Kriterien: Die neutrophilen Granula erscheinen klein, unregelmäßig und sehr variabel in der Größe; zuweilen bestehen Schwierigkeiten in der Erkennung der Granula, die Zelle erscheint dann diffus gelb gefärbt. Im Gegensatz dazu sind die eosinophilen Granula bedeutend größer, rund und intensiver gelb gefärbt; sie springen dem Betrachter geradezu ins Auge.

7. Monozyt.

Er besitzt stets einen mehr oder minder eingebuchteten oft gelappten Kern ohne Kernkörperchen. Der Kern ist zart und locker strukturiert und chromatinarm. Zuweilen finden sich mehrere übereinandergeschobene Kernlappen. Das taubenblaue Plasma enthält im Gegensatz zur Pappenheim-Färbung keine zarten, unregelmäßig verteilten, azurophilen Granulationen. Sind die Monozyten nur geringgradig pox-positiv (St. 1-2), so ist die Differenzierung nicht schwer. Bei stark pox-positiven Monozyten (St. 3-4) und nicht typischem Kern muß ein Pro-melozyt in Erwägung gezogen werden.

III. Ergebnisse

Es werden die Originalpräparate und Kulturansätze von 13 Patienten nach histochemischer Darstellung der Peroxydase ausgewertet (41 000 Zellen).

Gliederung der Einzelergebnisse:

1. Anamnestische Angaben, Klinische Befunde, Labordaten
2. Befund des Sternalpunktates
3. Tabelle der prozentualen Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices

4. Graphische Darstellung der Peroxydaseindices jeder einzelnen Zellart in Abhängigkeit von der Kultivierungsdauer
5. Zusammenfassung der Einzelergebnisse

Die eosinophilen Myelozyten, Stab- und Segmentkernigen werden unter g = Eosinophile zusammengefaßt.

ZZ = Zellzahl, angegeben in Prozent

P.I. = Peroxydaseindex

In den Tabellen 1-13 zeigt die letzte Zahl unter P.I. den Gesamtperoxydaseindex des Präparates an, der durch Division der Fermenteinheiten durch die Anzahl der gezählten Zellen gewonnen ist.

a. Einzelergebnisse:

1. Otto H., 71 Jahre. Stationäre Aufnahme wegen massiver Hämoptoe. Es wurden Bronchiektasen festgestellt.

Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

Ery.: $4,25 \times 10^6$ Hb: 13,7 g% Hb_E: 32 ~~18~~

Leukoz.: 7 600 davon Stabk.: 12

Segmk.: 49

Lymph.: 21

Mono.: 13

AMZ.: 5

Keine spezifische Therapie vor der Sternalpunktion.

Exitus letalis durch Herzruptur.

Zur Klärung der Monozytose erfolgte die Sternalpunktion.

Ergebnis: Die Monozytose im peripheren Blut zeigte im Knochenmark kein Äquivalent.

	0 h		24h		48h		72h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	1,9	0,4	1,7	0,3	0,6	0,0	0,8	0,0
(b) Promyel.	8,1	3,4	13,8	3,0	19,3	2,1	10,5	1,9
(c) Myeloz.	15,9	3,5	28,0	3,1	10,8	1,4	13,8	1,3
(d) Metamy.	7,6	2,9	7,3	2,3	14,9	1,9	12,9	1,5
(e) Stabk.	32,6	2,7	18,4	2,2	15,4	1,1	35,8	1,2
(f) Segm.	25,7	2,9	12,9	2,0	26,8	1,1	19,5	1,3
(g) Eos.	6,8	4,0	14,3	3,8	1,4	3,8	3,1	2,5
(h) Monoz.	1,4	0,4	3,6	1,1	10,8	0,8	3,6	0,9
Gesamt-P.J.	100,0	3,0	100,0	2,7	100,0	1,3	100,0	1,3

Tab. 1: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

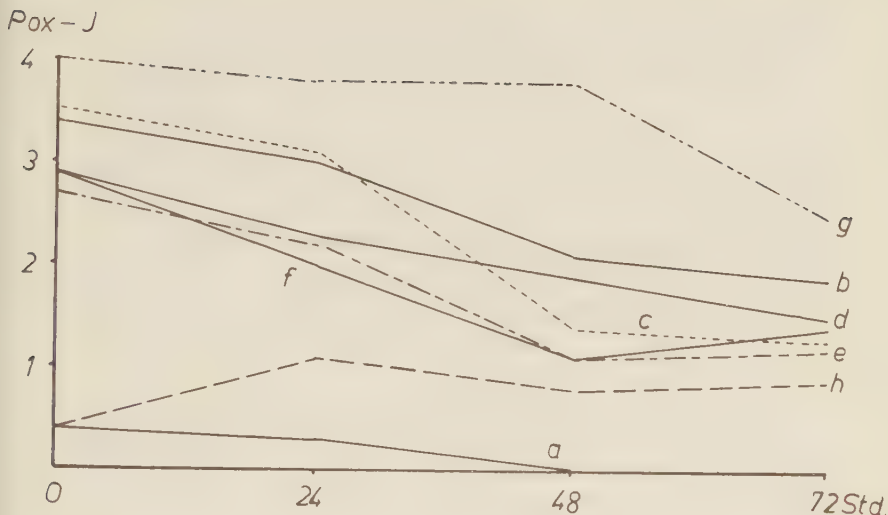


Abb. 1: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro

Die Gesamtaktivität der Peroxydase liegt im Originalpräparat mit 3,0 Einheiten im oberen Bereich.

Verlauf der Peroxydaseindices in vitro (Abb. 1):

Der Gehalt an POX bleibt bei den Eosinophilen (g) bis zu 48 Stunden konstant; erst nach 72 Stunden findet sich ein Verlust um etwa 1/3 des Ausgangswertes. Promyelozyten (b) und Myelozyten (c) mit einem höheren Ausgangswert als die reifen Formen (d-f) zeigen wie diese eine fallende Tendenz, bleiben jedoch weit von der Nulllinie entfernt. Den größten Verlust erfahren die Myelozyten (c) zwischen 24 und 48 Stunden. Die Monozyten (h) zeigen bei niedrigem Ausgangswert eine Zunahme der Fermentaktivität.

Zusammenfassung:

Nach 48 Stunden vermindert sich die Gesamtaktivität von 3,0

auf 1,3 Einheiten; nach 72 Stunden tritt kein weiterer Fermentverlust ein. Die POX der Monozyten nimmt zu, während sie bei allen granulopoetischen Zellen abnimmt.

2. Hanny B., 80 Jahre. Die Patientin kam mit cerebralem Insult (rechtsseitige Hemiparese, Dysphasie) und einer Pneumonie zur Aufnahme. Rumpel-Leede positiv.

Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

Ery.: $4,49 \times 10^6$ Hb: 14,5 g% Hb_E: 32 $\delta\delta$

Leukoz.: 4 100 davon Basoph.: 1

Eos.: 6

Stabk.: 5

Segmk.: 43

Lymphoz.: 34

Mono.: 11

Thrombozyten: 95 000 Hämatokrit: 44 %

Zur Klärung der bestehenden Thrombopenie und des positiven Rumpel-Leede-Testes wurde eine Sternalpunktion durchgeführt. Keine spezifische Therapie vor der Sternalpunktion. Ergebnis: Angeregte, gut ausgereifte Granulopoese; Megakaryozytopenie. Besserung des Zustandes unter Antibiotika, Euphyllin, Complamin und Lanicor. Nach erneutem enzephalomalazischen Insult Exitus letalis.

	0 h		24h		48h		72h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	2,4	0,4	4,3	0,3	3,1	0,1	1,7	0,0
(b) Promyel.	10,8	3,9	15,5	3,2	14,8	3,0	13,0	2,9
(c) Myeloz.	15,7	3,8	28,2	2,7	26,8	2,7	28,8	2,5
(d) Metamy.	12,6	3,4	8,7	1,6	7,7	2,1	7,0	2,3
(e) Stabk.	29,8	3,1	25,0	1,0	27,0	1,1	27,8	1,3
(f) Segm.	23,4	3,3	9,7	1,2	4,6	2,0	1,7	2,5
(g) Eos.	3,6	3,9	5,4	2,6	7,6	2,7	8,7	2,4
(h) Monoz.	1,7	1,4	3,2	1,7	8,4	1,6	11,3	1,4
Gesamt-P.J.	100,0	3,3	100,0	2,0	100,0	1,9	100,0	2,0

Tab. 2a: prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices. Kultivierung bei 37°.

	0 h		24 h		48 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	2,4	0,4	1,6	0,0	1,0	0,0
(b) Promyel.	10,8	3,9	6,0	1,7	7,6	2,1
(c) Myeloz.	15,7	3,8	31,2	2,0	29,8	2,1
(d) Metamy.	12,6	3,4	12,5	2,1	6,3	1,7
(e) Stabk.	29,8	3,1	21,8	0,7	36,7	0,9
(f) Segm.	23,4	3,3	13,7	1,8	9,4	1,0
(g) Eos.	3,6	3,9	12,1	3,2	4,6	3,0
(h) Monozy.	1,7	1,4	1,1	0,5	4,6	1,1
Gesamt-P.J.	100,0	3,3	100,0	1,7	100,0	1,5

Tab. 2b: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices. Kühlung für 1 Std. nach Anlegen der Kultur.

	0 h		24 h		48 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	2,4	0,4	0,0	0,0	0,6	0,0
(b) Promyel.	10,8	3,9	12,9	2,9	5,4	2,2
(c) Myeloz.	15,7	3,8	27,7	2,7	24,0	3,2
(d) Metamy.	12,6	3,4	13,2	1,0	14,4	1,6
(e) Stabk.	29,8	3,1	23,7	1,5	32,9	1,9
(f) Segm.	23,4	3,3	13,2	2,1	10,2	1,4
(g) Eos.	3,6	3,9	6,5	3,5	11,3	2,6
(h) Monozy.	1,7	1,4	2,8	1,4	1,2	1,0
Gesamt-P.J.	100,0	3,3	100,0	2,3	100,0	2,2

Tab. 2c: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices. Kühlung für 6 Std. nach Anlegen der Kultur.

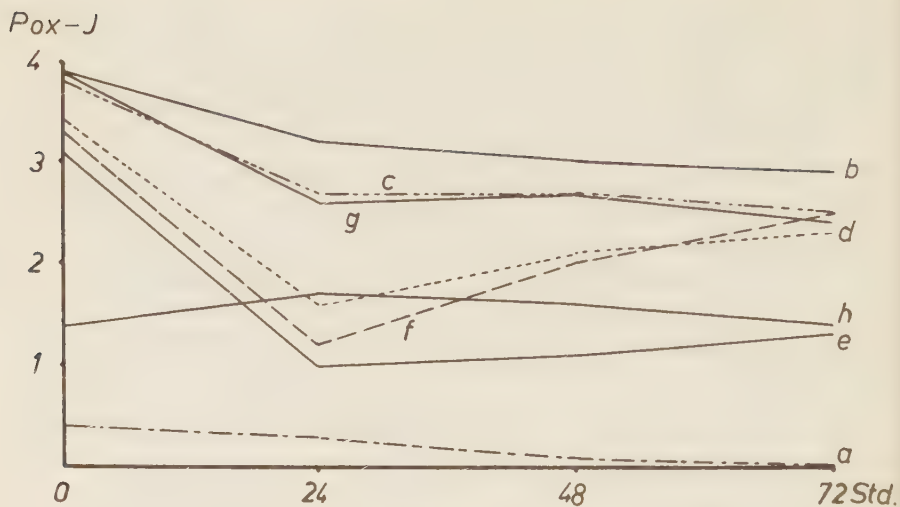


Abb. 2a: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro. Kultivierung bei 37°.

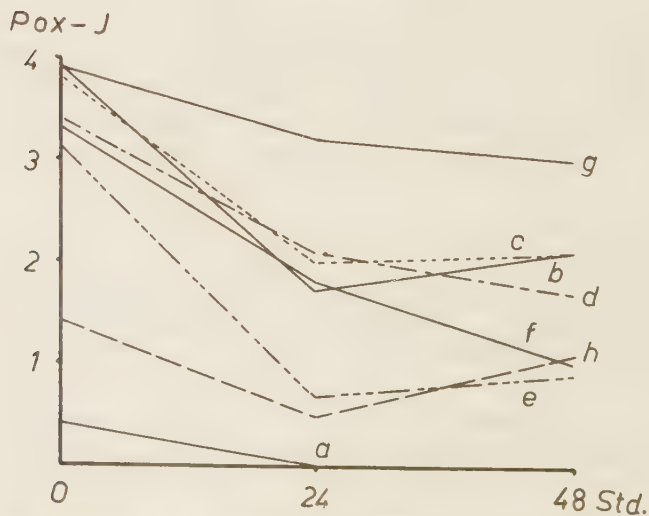


Abb. 2b: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro. Kühlung für eine Stunde nach Anlegen der Kultur.

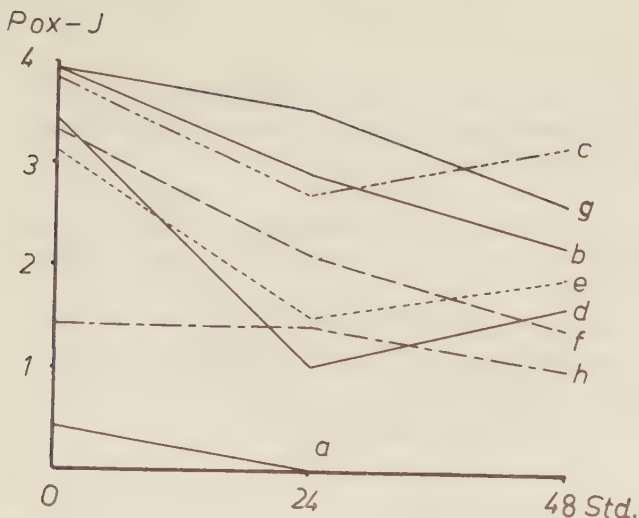


Abb. 2c

Verlauf der Peroxydaseindices in vitro. Kühlung für 6 Std. nach Anlegen der Kultur.

Ad Abb. 2a:

Die Gesamtaktivität der POX liegt im Originalausstrich mit 3,3 Einheiten im oberen Bereich.

Bereits nach 24 Stunden zeigen die Eosinophilen (g) einen Schwund an POX um 1/3 des Ausgangswertes; bis 72 Stunden erfolgt keine weitere Aktivitätsverminderung. Die gesamte neutrophile Reihe mit dem Höchstwert bei den Promyelozyten (b) erfährt eine mittlere Aktivitätsminderung auf 76 % (f) bis 42 % (e). Der 72-Stunden-Wert der Monozyten (h) ist nach leichtem Anstieg wieder identisch mit dem Ausgangswert.

Zusammenfassung:

Nach 24 Stunden vermindert sich die Gesamtaktivität von 3,3 auf 2,0 Einheiten. Die Monozyten haben nach 24 Stunden ihren Höchstwert. Nach 48 und 72 Stunden findet sich ein erneuter Anstieg des POX-Index bei den Granulozyten.

Ad Abb. 2b, c:

Die weiteren Kulturansätze (Kühlung für 1 und 6 Stunden) zeigen keine signifikanten Unterschiede zum Originalansatz.

Die Monozyten sind nach 24 Std. bei 1 Std. Kühlung nur in geringer Zahl vorhanden, so daß dem niedrigen POX-Index nur wenig Aussagekraft zukommt.

3. Gertrud M., 62 Jahre. Patientin kam mit hohem Fieber zur Aufnahme. BSG nach der 1. Stunde über 100, Milzschwellung vorhanden.

Diagnose: Infektileukozytose bei Cholelithiasis

Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

Ery.: $4,35 \times 10^6$ Hb: 12 g% Hb_E: 28 $\gamma\gamma$

Leukoz.: 19 150 davon Stabk.: 3

Segmk.: 91

Lymph.: 5

AMZ: 1

Thrombozyten: 428 000

Der Verdacht auf ein Plasmozytom konnte durch die Sternalpunktion nicht bestätigt werden.

	0 h		24 h		48 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	4,0	0,4	3,5	0,3	2,7	0,7
(b) Promyel.	11,8	3,1	21,6	2,0	37,9	1,8
(c) Myeloz.	10,6	2,2	25,2	2,2	21,5	2,1
(d) Metamy.	12,8	2,6	11,4	1,6	9,1	1,7
(e) Stabk.	19,6	2,3	11,9	2,1	15,5	1,6
(f) Segm.	29,5	2,5	16,6	2,7	3,6	2,6
(g) Eos.	6,8	3,6	4,4	2,7	5,1	1,9
(h) Monozyt.	4,9	1,1	5,4	1,5	4,6	1,3
Gesamt-P.J.	100,0	2,5	100,0	1,9	100,0	1,8

Tab. 3: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

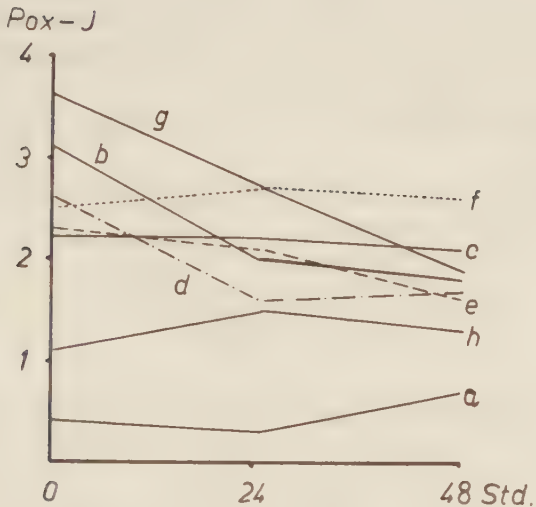


Abb. 3: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro
Mit einem Gesamtperoxydaseindex von 2,5 Einheiten liegt
das Originalpräparat im mittleren Bereich.

Verlauf der Peroxydaseindices in vitro (Abb. 3):

Der relativ starke Verlust an POX in den Eosinophilen (g) ist auffallend. Die Myeloblasten (a), Monozyten (h) und Segmentkernigen (f) erfahren eine leichte Aktivitätszunahme. Die anderen Zellen (b-e) zeigen eine geringe Abnahme an POX, die bei den Myelozyten (c) am wenigsten ausgesprochen ist.

Zusammenfassung:

Im Verlauf von 48 Stunden sinkt die Gesamtperoxydase von 2,5 auf 1,8 Einheiten. Der POX-Gehalt der Segmentkernigen wie der der Monozyten nimmt nach 24 Stunden zu, während er im Wesentlichen eine fallende Tendenz zeigt.

4. Frieda E., 72 Jahre. Seit 6 Wochen bemerkt die Patientin an beiden Seiten des Halses eine an Umfang zunehmende, schmerzlose Anschwellung. Die stationäre Einweisung erfolgte wegen paroxysmaler Tachykardie.

Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

BSG 117/125

Ery.: $3,2 \times 10^6$ Hb: 10,1 g% Hb_E: 31 ~~88~~

Leukoz.: 8 200 davon Bas.: 2
 Stabk.: 10
 Segmk.: 63
 Lymph.: 21
 Mono.: 4

Wegen des Verdachts auf ein Plasmozytom erfolgte die Sternalpunktion. Ergebnis: Mäßige Vermehrung der Plasmazellen und der lymphatischen Retikulumzellen.

Weitere Untersuchungsergebnisse: Elektrophorese ohne Anhalt für eine Paraproteinnämie. Schilddrüsenfunktionsuntersuchungen zeigten eine Jodfehlverwertung. Thyreoglobulinantikörper nachgewiesen.

Diagnose: normochrome Anämie bei Thyreoiditis Hashimoto, Diabetes mellitus.

	0 h		24 h		48 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	4,5	0,7	0,3	0,0	2,3	0,1
(b) Promyel.	12,8	2,8	7,8	0,7	17,6	2,1
(c) Myeloz.	10,9	2,2	39,3	1,0	22,0	2,4
(d) Metamy.	13,7	2,2	13,7	0,8	12,5	1,7
(e) Stabk.	32,3	2,2	17,1	0,9	25,8	1,7
(f) Segm.	17,4	2,3	11,6	0,7	10,7	2,1
(g) Eos.	4,2	3,5	7,5	3,2	3,9	3,2
(h) Monoz.	4,2	1,7	2,7	0,7	5,2	1,2
Gesamt-P.J.	100,0	2,2	100,0	1,0	100,0	2,0

Tab. 4: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

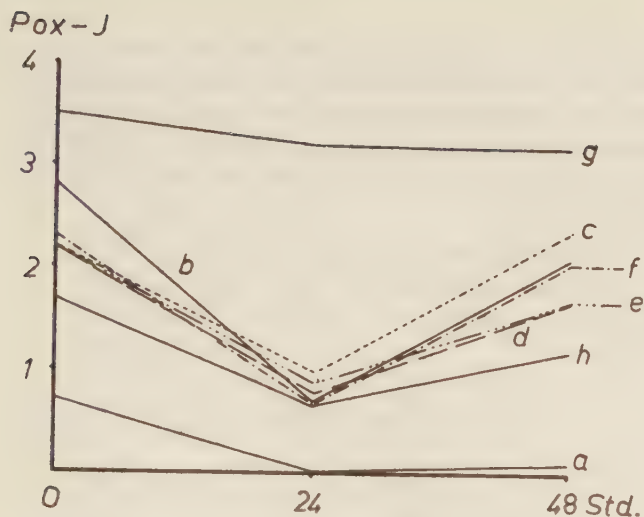


Abb. 4: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro

Der Gesamtperoxydaseindex im Originalpräparat liegt mit 2,2 Einheiten im unteren Bereich.

Verlauf der Peroxydaseindices in vitro (Abb. 4):

Der POX-Gehalt der Eosinophilen (g) zeigt eine nur geringe fallende Tendenz. Bei der neutrophilen Reihe mit Beginn bei den Promyelozyten (b) findet sich ein starker Aktivitätsverlust nach 24 Stunden; am nächsten Kulturtag erfolgt ein Anstieg; abgesehen von den Myelozyten (c) erreicht jedoch keine andere Zellart den Ausgangswert wieder. Als Erklärung für den massiven POX-Verlust am 1. Kulturtag müssen technische Mängel (schlechte Qualität des Präparates) in Erwägung gezogen werden.

Zusammenfassung:

Die Gesamtaktivität erfährt nach dem 1. Tag eine Verminderung von 2,2 auf 1,0 Einheiten; nach 48 Stunden erfolgt wieder eine Zunahme auf 2,0 Einheiten. Abgesehen von den Eosinophilen ist der Kurvenverlauf bei allen Zellen annähernd parallel.

5. Pauline D., 74 Jahre. Seit 1945 ist ein Diabetes mellitus und eine hochgradige Cerebralsklerose bekannt. Bei einem Umstellungsversuch auf orale Medikation wurde Harnzucker festgestellt. Es besteht eine normochrome Anämie unbekannter Ursache. Verdacht auf chronische Pyelitis.

Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

Ery.: $3,13 \times 10^6$ Hb: 10,1 g% Hb_E : 32 *88*
 Leukoz.: 7 700 davon Bas.: 2
 Eos.: 2
 Stabk.: 10
 Segmk.: 28
 Lymph.: 54
 Mono.: 3
 AMZ 1

Vorübergehende Retikulozytose von 17% .

Thrombozyten: 202 000, Hämatokrit: 31%, Serum-Fe: 49 *8*%

Ergebnis der Sternalpunktion: Bis auf eine Eosinophilie kein auffälliges Knochenmark. Bei zunehmender Cerebralsklerose wurde die Patientin in häusliche Pflege entlassen.

	0 h		24 h		48 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	6,2	0,9	1,7	0,7	2,2	0,3
(b) Promyel.	16,0	3,2	16,9	2,0	2,2	0,0
(c) Myeloz.	9,5	3,4	28,2	1,4	19,4	0,5
(d) Metamy.	7,8	2,9	7,9	0,6	12,2	0,5
(e) Stabk.	23,1	1,5	16,4	0,6	23,0	1,2
(f) Segm.	22,2	1,5	10,2	0,6	18,7	0,8
(g) Eos.	11,9	3,4	15,9	3,8	19,4	3,5
(h) Monoz.	3,3	1,9	2,8	0,8	2,9	0,8
Gesamt-P.J.	100,0	2,3	100,0	1,6	100,0	1,3

Tab. 5: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

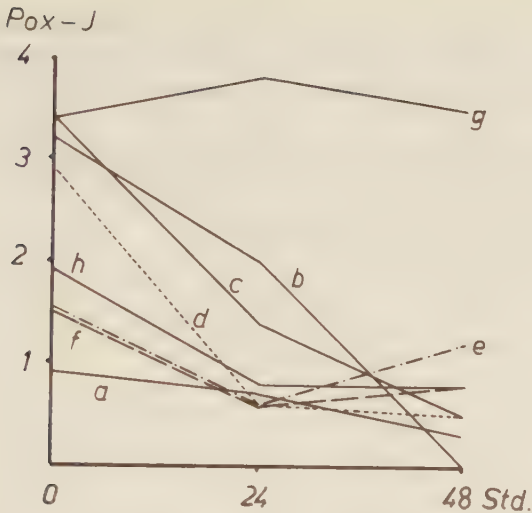


Abb. 5: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro

Die Gesamtaktivität der POX liegt im Originalpräparat mit 2,3 Einheiten im unteren Bereich.

Verlauf der Peroxydaseindices in vitro (Abb. 5):

Die Eosinophilen (g) zeigen eine geringe Aktivitätszunahme nach 24 Stunden; nach 48 Stunden ist der Ausgangswert noch nicht ganz wieder erreicht. Promyelozyten (b), Myelozyten (c) und Metamyelozyten (d) erfahren einen sehr starken Verlust, wobei die Promyelozyten (b) nach 48 Stunden bereits keine Aktivität mehr aufweisen. Bei den Segmentkernigen (f) findet sich eine Reduktion auf etwa die Hälfte, bei den Stabkernigen (e) auf 80% des Ausgangswertes.

Zusammenfassung.

Die Gesamtperoxydase fällt nach 48 Stunden von 2,3 auf 1,3 Einheiten. Die Promyelozyten verlieren den gesamten POX-Gehalt, während die Myeloblasten relativ reich an POX bleiben. Die reiferen granulopoetischen Zellen zeigen abgesehen von den Eosinophilen eine fallende Tendenz des POX-Gehaltes.

6. Martha S., 66 Jahre. 1963 Ovarektomie beidseits wegen Cystadenoma pseudomucinosum carcinomatosum, anschließend Röntgenbestrahlung. Einweisung wegen Anämie unklarer Genese.

Diagnose: Hiatushernie mit gleichzeitiger Blutungsanämie.

Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

Ery.: 4×10^6 Hb: 10,4 g% Hb_E: 26 **88**

Serum-Fe: 85,2 **8**%

Leukoz.: 4 300 davon Bas.: 1
Eos.: 2
Stabk.: 2
Segmk.: 70
Lymph.: 17
Mono.: 8

Thrombozyten: 145 000 Hämatokrit: 38 %

Ergebnis der Sternalpunktion: Weiße Reihe in allen Reifestufen vertreten. Erythropoese vermehrt und rechtsverschoben.

	0 h		24 h		72 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	3,5	0,6	1,3	0,5	1,7	0,5
(b) Promyel.	5,0	3,1	7,7	2,4	12,6	1,7
(c) Myeloz.	21,2	3,0	31,7	2,3	16,5	2,1
(d) Metamy.	9,5	2,4	6,7	1,6	8,2	1,9
(e) Stabk.	34,2	2,2	22,7	1,4	26,2	1,3
(f) Segm.	14,2	1,8	14,9	1,2	9,9	1,1
(g) Eos.	11,4	3,9	12,9	3,3	22,9	3,3
(h) Monoz.	1,0	0,4	2,1	1,2	2,0	0,8
Gesamt-P.J.	100,0	2,5	100,0	2,0	100,0	2,0

Tab. 6: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

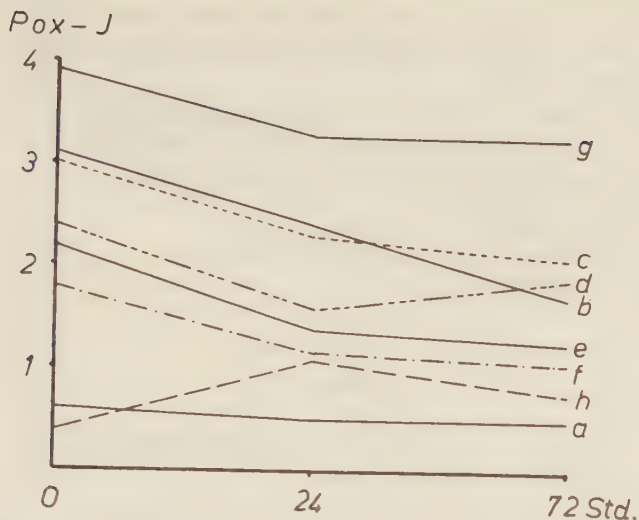


Abb. 6: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro

Die Gesamtaktivität der POX liegt im Originalpräparat mit 2,5 Einheiten im unteren Bereich.

Verlauf der Peroxydaseindices (Abb. 6):

Bei den Eosinophilen (g) findet sich nach 24 Stunden ein geringer Fermentverlust; nach 72 Stunden keine weitere Verminderung. Die gesamte neutrophile Reihe (a-f) erfährt eine Aktivitätsabnahme mittleren Grades, wobei die Promyelozyten (b) mit einer Reduktion auf 55% des Ausgangswertes weitaus an der Spitze stehen. Nach einem Gipfel im 24-Stunden-Präparat zeigt die Monozyten-POX (h) eine leicht fallende Tendenz.

Zusammenfassung:

Die Gesamtaktivität sinkt nach 24 Stunden von 2,5 auf 2,0 Einheiten; im weiteren Verlauf erfolgt keine Verminderung. Der Gehalt an Monozyten-POX nimmt bei niedrigem Ausgangswert deutlich zu, während alle anderen Zellen einen nur gering fallenden POX-Gehalt aufweisen.

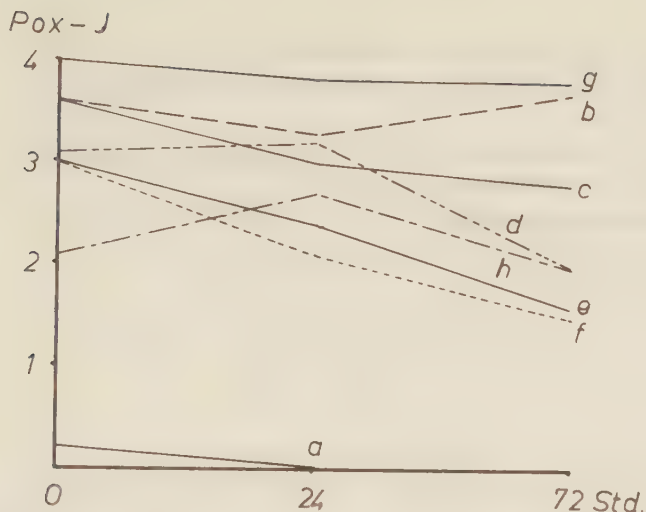


Abb. 7: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro

Mit einem Gesamtperoxydasegehalt von 3,1 Einheiten liegt das Originalpräparat im oberen Bereich.

Verlauf der Peroxydaseindices in vitro (Abb. 7):

Die Eosinophilen (g) erfahren nach 72 Stunden nur einen geringen Fermentverlust. Die Promyelozyten-POX (b) zeigt eine ansteigende Tendenz. Die restliche neutrophile Reihe (c-f) verhält sich unterschiedlich: man findet einen Aktivitätsverlust auf 78% (c) bis 50% (f) des Ausgangswertes. Nach einer Zunahme der Monozyten-POX (h) nach 24 Stunden ergibt sich im weiteren Verlauf ein Fermentverlust.

Zusammenfassung:

Die Gesamtaktivität sinkt nach 72 Stunden von 3,1 auf 2,2 Einheiten. Nicht nur die Monozyten, sondern auch die Metamyelozyten zeigen - im Gegensatz zu den übrigen Zellen - nach 24 Stunden eine Fermentzunahme.

8. Emma Sch., 71 Jahre. Einweisung mit Parese der unteren Körperhälfte und dissoziierten Empfindungsstörungen.

Diagnose: Polyzythämia vera, Arteria spinalis anterior-Syndrom, dekompensierter Hypertonus.

Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

Ery.: $9,08 \times 10^6$ Hb: 24 g% Hb_E: 26 **88**

Thrombozyten: 227 000

Leukoz.: 21 000 davon Stabk.: 6

Segmk.: 88

Lymph.: 2

Mono.: 4

Retikulozyten: 17% Hämatokrit: 65 %

Ergebnis der Sternalpunktion: Vermehrung der lymphoiden Retikulumzellen; rote Reihe in allen Reifungsstufen reichlich vertreten.

	0 h		24 h		48 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	1,9	0,2	1,4	0,1	1,6	0,0
(b) Promyel.	6,3	3,7	17,5	2,7	15,4	3,0
(c) Myeloz.	18,9	3,1	30,9	3,0	38,9	2,4
(d) Metamy.	7,6	3,3	2,6	3,1	3,2	2,3
(e) Stabk.	25,1	3,3	11,8	2,4	19,1	2,3
(f) Segm.	27,6	3,4	16,1	2,2	10,9	2,5
(g) Eos.	8,0	3,9	16,6	3,9	7,9	3,8
(h) Monoz.	4,6	1,5	3,1	1,4	3,0	1,9
Gesamt-P.J.	100,0	3,2	100,0	2,8	100,0	2,6

Tab. 8: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

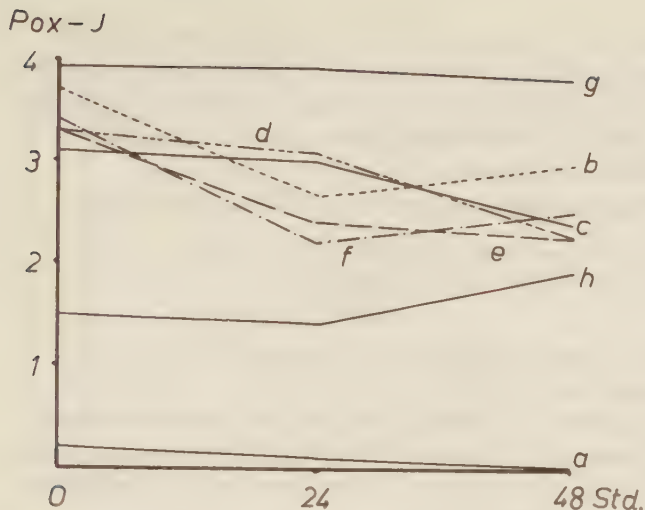


Abb. 8: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro

Die Gesamtaktivität der POX liegt im Originalpräparat mit 3,2 Einheiten im oberen Bereich.

Verlauf der Peroxydaseindices in vitro (Abb. 8):

Der Fermentgehalt der Eosinophilen (g) ist keiner Veränderung unterworfen. Die gesamte neutrophile Reihe (a-f) zeigt eine fallende Tendenz des POX-Gehaltes; bei den Promyelozyten (b) und den Segmentkernigen (f) besteht eine Zunahme der Fermentaktivität nach 48 Stunden verglichen mit den Werten nach 24 Stunden; der Ausgangswert wird nicht erreicht. Die Monozyten (h) erfahren eine Zunahme der POX-Aktivität nach 48 Stunden.

Zusammenfassung:

Die Gesamtperoxydase sinkt nach 48 Stunden von 3,2 auf 2,6 Einheiten. Die Granulozyten zeigen eine wechselnde, die Monozyten eine steigende Tendenz des Kurvenverlaufs der POX-Index.

9. Otto St., 65 Jahre. Seit 4 Wochen schmerzhaftes Schwellungen beider Halspartien, Lymphknoten vergrößert in der rechten Leistenbeuge und Axilla. Leber um 4 Querfinger verbreitert, Milz gerade zu palpieren.

Diagnose: Lymphadenose.

Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

Ery.: $3,9 \times 10^6$ Hb: 10,7 g% Hb_E: 27 ~~88~~

Leukoz.: 378 000 davon Segmk.: 5

Lymph.: 95

Gumprecht'sche Kernschatten vorhanden

Thrombozyten: 64 000

Keine spezifische Therapie z.Zt. der Sternalpunktion.

Ergebnis der Sternalpunktion: Zelldichtes Mark, gleichmäßig von lymphatischen Zellen durchsetzt. Myelo- und Erythropoese reduziert.

	0 h		24 h		48 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	0,5	0,0	1,4	0,2	0,4	0,0
(b) Promyel.	6,4	3,8	12,0	3,0	15,0	3,5
(c) Myeloz.	23,0	3,5	44,0	2,5	36,3	2,6
(d) Metamy.	8,5	3,6	3,9	2,4	6,1	2,0
(e) Stabk.	23,2	3,6	20,2	1,9	22,6	2,2
(f) Segm.	28,9	3,5	12,0	1,6	6,6	2,1
(g) Eos.	6,2	3,8	3,9	3,9	9,1	3,8
(h) Monoz.	3,3	2,2	2,6	0,3	3,9	1,5
Gesamt-P.J.	100,0	3,6	100,0	2,3	100,0	2,6

Tab. 9: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

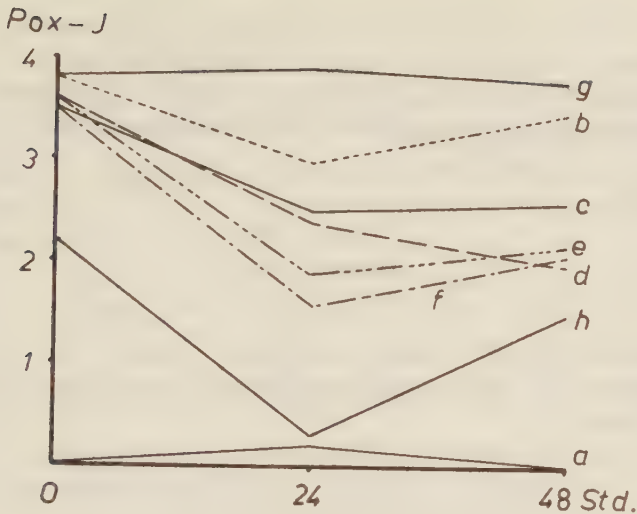


Abb. 9: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro

Um genügend Zellen der weißen Reihe zu finden, wurden jeweils 2 Präparate sowohl vom Original- als auch von den Kulturausstrichen untersucht.

Der Gesamtperoxydaseindex liegt mit 3,6 Einheiten im Originalpräparat an der Spitze unserer Patientenauswahl. Verlauf der Peroxydaseindices in vitro (Abb. 9):

Die Eosinophilen (g) zeigen nach 48 Stunden keinen Fermentverlust. Mit Ausnahme der Myeloblasten (a) und Metamyelozyten (d) erfahren die neutrophile Reihe (b,c,e,f) und Monozyten (h) nach einem anfänglichen Verlust eine deutliche Aktivitätszunahme nach 48 Stunden; in keinem Fall wird jedoch der Ausgangswert überschritten.

Zusammenfassung:

Bis auf die Eosinophilen zeigen alle Zellarten nach 24 Stunden einen verminderten POX-Gehalt. Er steigt nach 48 Stunden wieder etwas an.

10. Willi U., 62 Jahre. Die Aufnahme erfolgte wegen rezidivierender Fieberschübe (14-tägiger Rhythmus).
Diagnose: Lymphogranulomatose (histologisch gesichert).
Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

Ery.: $4,4 \times 10^6$ Hb: 13,4 g% Hb_E: 30,5 $\gamma\gamma$
Leukoz.: 9 100 davon Stabk.: 7
Segmk.: 62
Lymph.: 23
Mono.: 8

Thrombozyten: 118 000 Retikulozyten: 14 %.

Therapie vor der Sternalpunktion: 10 Bestrahlungen (Betatron).

Ergebnis der Sternalpunktion: Zellreiches Mark mit erheblich angeregtem Retikulum; Granulopoese gesteigert und linksverschoben; Eosinophile vermehrt.

	0 h		24 h		48 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	6,9	0,9	2,4	0,5	0,6	0,0
(b) Promyel.	8,0	3,4	24,6	1,0	21,8	0,6
(c) Myeloz.	20,2	3,4	27,1	0,9	20,4	0,1
(d) Metamy.	14,5	2,9	2,4	1,0	17,8	0,1
(e) Stabk.	31,2	2,4	13,3	0,1	17,8	0,2
(f) Segm.	12,7	2,5	2,4	0,2	3,4	0,6
(g) Eos.	4,2	4,0	26,3	3,0	16,8	1,8
(h) Monoz.	2,3	1,4	1,5	0,1	1,4	0,0
Gesamt-P.J.	100,0	2,7	100,0	2,0	100,0	0,6

Tab. 10 a: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices, Kultivierung bei 37°.

	0 h		24 h		48 h		72 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	6,9	0,9	1,0	0,6	3,6	0,5	1,0	0,6
(b) Promyel.	8,0	3,4	6,3	2,3	16,2	1,3	13,0	1,7
(c) Myeloz.	20,2	3,4	24,9	1,1	20,5	1,0	27,3	1,2
(d) Metamy.	14,5	2,9	15,3	0,6	8,0	0,6	11,5	1,1
(e) Stabk.	31,2	2,4	32,6	0,5	20,8	0,5	20,0	0,8
(f) Segm.	12,7	2,5	8,7	0,7	20,6	0,6	11,9	1,0
(g) Eos.	4,2	4,0	9,4	4,0	8,1	4,0	10,1	3,9
(h) Monoz.	2,3	1,4	1,8	0,7	2,2	0,8	5,2	0,9
Gesamt-P.J.	100,0	2,7	100,0	1,1	100,0	1,0	100,0	1,4

Tab.: 10 b: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices. Kühlung für 1 Stunde nach Anlegen der Kultur.

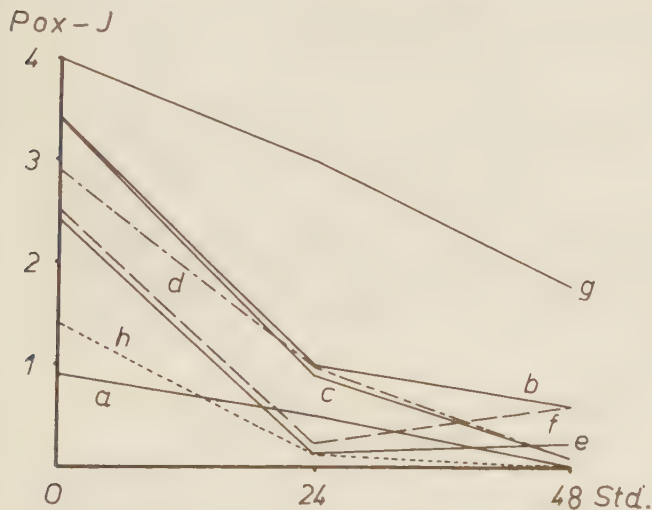


Abb. 10 a: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro bei 37°



Abb. 10b: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro. Kühlung für 1 Stunde nach Anlegen der Kultur.

Ad Abb. 10a:

Die Gesamtaktivität der Peroxydase liegt im Originalpräparat mit 2,7 Einheiten im mittleren Bereich. Die Eosinophilen (g) verlieren nach 48 Stunden etwa die Hälfte ihres POX-Gehaltes. Die gesamte neutrophile Reihe (a-f) erfährt eine starke Fermentminderung; am stärksten sind die Stabkernigen (e), die Myelozyten (c) und die Metamyelozyten (d) betroffen. Die Monozyten (h) zeigen nach 48 Stunden keine POX-Aktivität mehr.

Zusammenfassung:

Die Gesamtaktivität sinkt nach 48 Stunden von 2,7 auf 0,6 Einheiten bei ähnlichem Verhalten aller Zellarten.

Ad Abb. 10b:

Der Verlust an Gesamtperoxydase nach kurzer Kühlung hat nach 48 Stunden ein ähnliches Ausmaß wie bei der Originalkultur erreicht. Auffallend ist eine geringe Aktivitätszunahme im

72-Stunden-Präparat. Die Eosinophilen (g) erfahren im Fall 10b einen geringeren Aktivitätsverlust verglichen mit der ungekühlten Kultur. Das Verhalten der restlichen Zellarten ergibt keine Besonderheiten im Vergleich zu Fall 10a.

11. Artur D., 66 Jahre. Der Patient kam mit Orthopnoe, Zyanose und Lymphknotenschwellung am Hals zur Aufnahme. Rezidivierende, sanguinolente Pleuraergüsse.

Diagnose: in die Haut metastasierendes Bronchial-Karzinom (histologisch gesichert).

Untersuchungsergebnisse z.Zt. der Sternalpunktion:

Ery.:	$6,42 \times 10^6$	Hb:	17,8 g%	Hb _E :	28 <i>88</i>
Leukoz.:	21 000	davon	Bas.:	1	
			Eos.:	5	
			Myeloz.:	1	
			Stabk.:	4	
			Segmk.:	53	
			Lymph.:	30	
			Mono.:	6	

Keine spezifische Therapie vor der Sternalpunktion.

Ergebnis der Sternalpunktion: Reichlich Plasmazellen; weiße Reihe in allen Reifungsstufen vertreten, z.T. toxisch granuliert.

	0 h		24 h		48 h		72 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	2,4	0,8	0,4	0,8	0,6	0,0	0,3	0,0
(b) Promyel.	7,5	3,6	20,4	1,1	21,1	0,7	10,6	0,6
(c) Myeloz.	14,3	3,2	21,8	0,4	23,7	0,6	22,4	0,3
(d) Metamy.	6,2	2,9	6,0	0,3	4,6	0,1	5,5	0,2
(e) Stabk.	22,8	2,5	20,4	1,0	21,3	0,2	18,5	0,3
(f) Segm.	38,9	3,2	9,7	0,7	12,7	0,3	17,8	0,2
(g) Eos.	6,2	3,9	18,4	3,8	14,5	3,5	22,7	3,4
(h) Monz.	1,7	0,7	2,9	0,4	1,5	0,7	2,2	0,4
Gesamt-P.J.	100,0	3,0	100,0	1,2	100,0	0,9	100,0	1,0

Tab. 11: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

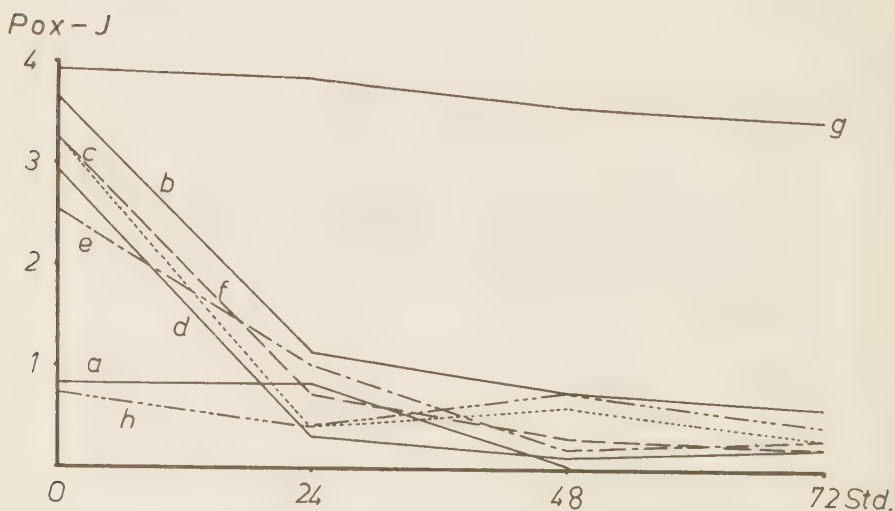


Abb. 11: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro.

Ad Abb. 11:

Die Gesamtaktivität der Peroxydase liegt im Originalpräparat mit 3,0 Einheiten im mittleren bis höheren Bereich.

Die Eosinophilen (g) erfahren eine geringe, die neutrophile Reihe (a-f) eine sehr starke Aktivitätsverminderung. Die Monozyten zeigen bei geringem Ausgangswert eine fallende Tendenz.

Zusammenfassung:

Die Gesamtaktivität vermindert sich nach 72 Stunden von 3,0 auf 1,0 Einheiten auf Kosten der neutrophilen Reihe.

12. Anna S., 71 Jahre. Die Patientin kam mit einer Lymphknotenschwellung im Bereich der linken Halsseite und mit einer Resistenz im mittleren Oberbauch zur Aufnahme. Seit 3 Jahren bestanden Magenbeschwerden. Die Probeexzision ergab ein Retothelsarkom.

Untersuchungsbefunde z.Zt. der Sternalpunktion:

BSG 79/106

Ery.: $4,05 \times 10^6$ Hb: 11,8 g% Hb_E: 29 **xx**

Leuko.: 6 600 davon Eos.: 3

Stabk.: 3

Segmk.: 69

Lymph.: 21

Mono.: 2

AMZ: 2

Vor der Sternalpunktion 5 x 200 mg Endoxan.

Ergebnis der Sternalpunktion: Zellreiches Mark; Plasmazellen vermehrt; Eosinophile vermehrt; keine Tumorzellen.

	0 h		20 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	1,2	0,8	0,6	0,0
(b) Promyel.	5,9	3,0	13,9	0,0
(c) Myeloz.	19,8	3,0	20,4	0,0
(d) Metamy.	10,0	2,5	10,3	0,0
(e) Stabk.	27,7	2,6	12,3	0,0
(f) Segm.	28,3	2,7	26,5	0,0
(g) Eos.	6,4	4,0	13,8	0,0
(h) Monoz.	0,7	1,1	2,2	0,0
Gesamt-P.J.	100,0	2,9	100,0	0,0

Tab. 12: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

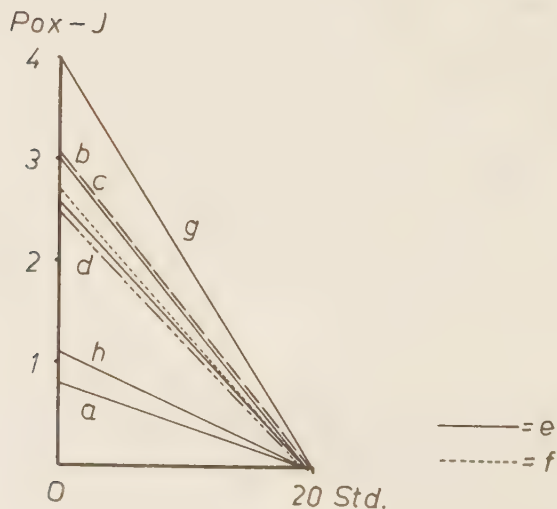


Abb. 12: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro.

Ad Abb. 12:

Der Gesamtperoxydaseindex liegt mit 2,9 Einheiten im mittleren Bereich.

Die POX-Indices der untersuchten Zellen zeigen verglichen mit anderen Originalpräparaten keine Besonderheiten. Bereits nach 20 Stunden ist ein totaler Peroxydaseschwund festzustellen.

Nach 48 Stunden waren die Kulturen nicht mehr auswertbar.

13. Herta B., 73 Jahre. Seit 8 Monaten ist eine Panmyelopathie bekannt. In dieser Zeit erhielt die Patientin täglich 1 Tbl. Decortilen 12 mg; regelmäßige Blutbildkontrollen wurden durchgeführt. Plötzlich trat ein allgemeines Krankheitsgefühl auf mit Fieber bis $39,5^{\circ}$ und Schmerzen im Analbereich (flächenhafte, kaum eitrige Nekrosen).

Diagnose: Panmyelopathie, Septikämie: Bronchitis, Verdacht auf beidseitige Pyelitis, Verdacht auf Pankreatitis.

Untersuchungsbefunde z.Zt. der Sternalpunktion:

BSG 50/95 Serum-Fe: 34,8 %
Ery.: $2,63 \times 10^6$ Hb : 8,6 g% Hb_E : 32,8 %
Leukoz.: 2 450 davon Myeloz.: 10
Metamy.: 6
Stabk.: 15
Segmk.: 46
Lymph.: 11
Monoz.: 1
AMZ: 11

Thrombozyten: 9 000

Ergebnis der Sternalpunktion: Zellreiches Mark; weiße Reihe in allen Stufen vertreten, jedoch deutlich linksverschoben, vorwiegend myelozytär; Riesenmetamyelozyten als Zeichen der überstürzten Regeneration; beträchtlicher Anteil an Monozyten und monozytoiden Vorstufen; Erythropoese kaum vertreten. Ein früheres Sternalpunktat (vor 8 Monaten) zeigte ein völlig anderes Bild: Granulopoese erheblich vermindert, Erythropoese im Vordergrund. Weiterer Verlauf: Abnahme der Leukozyten. Harnstoffanstieg. Exitus letalis.

	0 h		24 h		48 h	
	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.	ZZ	P.I.
(a) Myelobl.	3,4	0,1	0,0	0,0	1,7	0,3
(b) Promyel.	15,4	1,5	11,2	0,5	4,0	0,6
(c) Myeloz.	24,9	1,4	22,2	0,7	30,1	0,4
(d) Metamy.	10,0	1,0	14,5	0,0	25,6	0,4
(e) Stabk.	19,7	1,0	23,9	0,3	19,3	0,3
(f) Segm.	10,3	0,9	15,4	0,6	11,4	0,6
(g) Eos.	4,3	1,8	0,0	0,0	0,0	0,0
(h) Monoz.	12,0	0,6	12,8	0,5	7,9	0,3
Gesamt-P.J.	100,0	1,1	100,0	0,4	100,0	0,4

Tab. 13: Prozentuale Zellverteilung der Granulopoese und Peroxydaseindices.

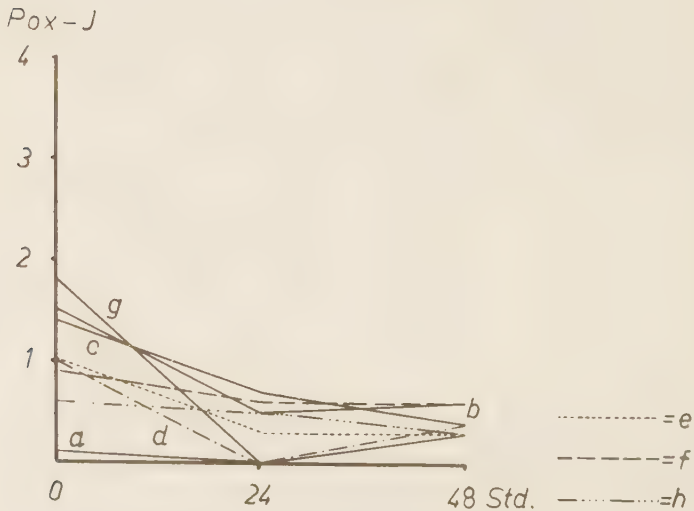


Abb. 13: Verlauf der Peroxydaseindices in vitro.

Ad Abb. 13:

Mit 1,1 Einheiten als Gesamtperoxydaseindex zeigt das Originalpräparat die geringste Fermentaktivität unserer Patientenauswahl. Die Ausgangswerte sind bei allen Zellarten (a-h) ausgesprochen niedrig. Abgesehen von der fallenden Tendenz der Fermentaktivität sämtlicher Zellarten ist es auffällig, daß nach 24 Stunden die Eosinophilen (g) den Nullwert erreicht haben.

Zusammenfassung:

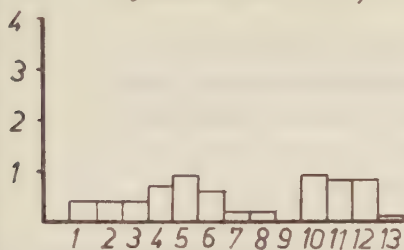
Die Gesamtaktivität sinkt nach 48 Stunden von 1,1 auf 0,4 Einheiten auf Kosten aller neutrophilen und eosinophilen Zellen.

b. Zusammenfassung der Ergebnisse:

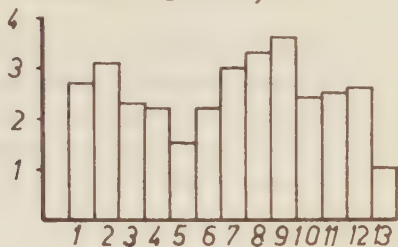
Die Abb. 14 stellt die Schwankungen der mittleren Peroxydaseindices bei den einzelnen Patienten im Originalpräparat dar. Dabei entsprechen:

- Fall 1 = Normal
- Fall 2 = Normal
- Fall 3 = Infektleukozytose
- Fall 4 = normochrome Anämie bei Thyreoiditis Hashimoto
- Fall 5 = Eisen-Mangelanämie
- Fall 6 = Eisen-Mangelanämie
- Fall 7 = Eisen-Mangelanämie, Prednisolonbehandlung bei rheumatoider Arthritis, toxisches Adenom der Schilddrüse
- Fall 8 = Polycythaemia vera
- Fall 9 = Lymphadenose
- Fall 10 = Lymphogranulomatose
- Fall 11 = Bronchial-Karzinom
- Fall 12 = Retothelsarkom
- Fall 13 = Panmyelopathie

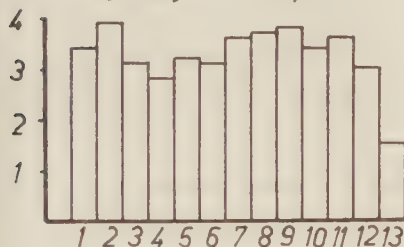
Pox-J Myeloblasten $\bar{x}=0,49$



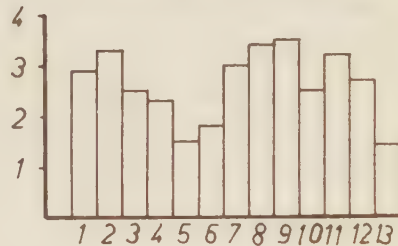
Stabkernige $\bar{x}=2,49$



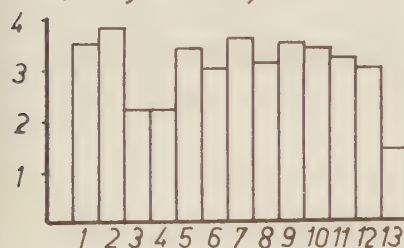
Promyelozyten $\bar{x}=3,24$



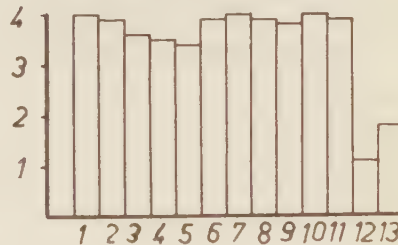
Segmentkernige $\bar{x}=2,58$



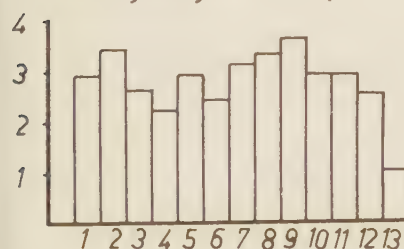
Myelozyten $\bar{x}=3,02$



Eosinophile $\bar{x}=3,44$



Metamyelozyten $\bar{x}=2,74$



Monozyten $\bar{x}=1,27$

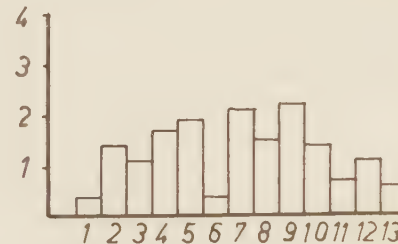


Abb. 14

Schwankungen der mittleren Peroxydaseindices im Originalpräparat. $\bar{x}$ = Mittelwert

Aus den Peroxydasewerten aller dargestellten Zellen wurde für jeden Fall im Originalpräparat ein mittlerer Index gebildet, da die Fermentaktivität bei einzelnen Erkrankungen in allen Zellen vom Mittelwert abweicht (Abb. 15). Die Ordnung erfolgt nach der Höhe des Index.

Lymphatische Leukämie (Fall 9)
 Normal (Fall 2)
 Polycythaemia vera (Fall 8)
 Fe-Mangelanämie, Prednisolon-
 behandlung, tox. Adenom (Fall 7)
 Normal (Fall 1)
 Bronchial-Karzinom (Fall 11)
 Retothelsarkom (Fall 12)
 Lymphogranulomatose (Fall 10)
 Infektleukozytose (Fall 3)
 Eisen-Mangelanämie (Fall 6)
 Eisen-Mangelanämie (Fall 5)
 Anämie bei Thyreoiditis Hashimoto
 (Fall 4)
 Panmyelopathie (Fall 13)

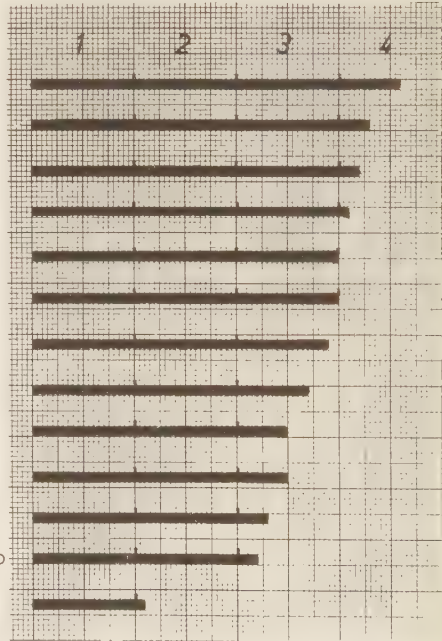


Abb. 15

Die Veränderungen der mittleren Peroxydaseindices aller Zellen in der Koagululkultur stellen sich wie folgt dar (Tab. 14):

Fall	0 h	24 h	48 h	72 h
1.	3,0	2,7	1,3	1,3
2.	3,3	2,0	1,9	2,0
3.	2,5	1,9	1,8	-
4.	2,2	1,0	2,0	-
5.	2,3	1,6	1,3	-
6.	2,5	2,0	-	2,0
7.	3,1	2,7	-	2,2
8.	3,2	2,8	2,6	-
9.	3,6	2,3	2,6	-
10.	2,7	2,0	0,6	-
11.	3,0	1,2	0,9	1,0
12.	2,9	0,0	-	-
13.	1,1	0,4	0,4	-

Tab. 14

c. Statistische Auswertung

Die Frage, ob nach 24 Stunden eine Abnahme des POX-Gehaltes vorliegt, soll durch den Student'schen oder t-Test geprüft werden.

Als Voraussetzung für diesen Test wird angenommen, daß die Differenzen x des POX-Gehalts zu Anfang des Versuchs und nach 24 Stunden einer Normalverteilung

$$P(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$$

genügen. Die Parameter μ und σ , die die Form der Funktion $P(x)$ bestimmen, heißen Mittelwert und Standardabweichung der Funktion.

Die Wahrscheinlichkeit α , daß ein Wert x nicht kleiner ist als ein vorgegebener Wert x_α , ist gegeben durch

$$\alpha = \int_{x_\alpha}^{\infty} P(x) dx.$$

Entnimmt man nun einer Normalverteilung eine Stichprobe von n Werten, so ist der Mittelwert

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

und die Standardabweichung

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

dieser Stich-

probe nicht gleich μ bzw. σ , sondern je nach Art und Umfang der Stichprobe von diesen verschieden, d.h. die Funktion $P(x)$ läßt sich hierdurch nicht genau ermitteln. Aus den Verteilungsfunktionen, die für $\bar{x}$ und s gelten, läßt sich nun eine Funktion $g(t)$ konstruieren, die schon für kleinere Stichproben weitgehend mit $P(x)$ übereinstimmt und den Parameter σ nicht mehr enthält. Die Variable t ist dabei durch

$$t = \sqrt{n} \frac{\bar{x} - \mu}{s}$$

definiert.

$g(t)$ heißt auch Student'sche oder t-Verteilung.

Macht man nun eine Annahme über die Größe von μ , dann ergibt sich mit den aus der Stichprobe ermittelten Größen $\bar{x}$ und s ein bestimmtes t .

Ähnlich wie für x ist auch die Wahrscheinlichkeit α , daß ein Wert t nicht kleiner ist als ein vorgegebenes t_α , gegeben durch

$$\alpha = \int_{t_\alpha}^{\infty} g(t) dt$$

Die Werte t_α lassen sich für die durch die geforderte Genauigkeit bestimmte Wahrscheinlichkeit α und verschiedene Werte von n aus Tabellen entnehmen. Ist also das aus der Stichprobe ermittelte t größer als t_α , so ist die Wahrscheinlichkeit, daß t in der durch die Annahme über μ bestimmten Gesamtheit vorkommt, höchstens gleich α . α heißt auch das Signifikanzniveau des Tests.

Im vorliegenden Fall ist auf diesem Wege zu ermitteln, ob die unten aufgeführten Differenzen von Null verschieden sind; in diesem Fall muß also $\mu = 0$ gesetzt werden. Trifft dies zu, so kann man mit der bei der Berechnung eingesetzten Wahrscheinlichkeit α ausschließen, daß der POX-Gehalt konstant bleibt, oder mit der Wahrscheinlichkeit $1 - \alpha$ behaupten, daß der Gehalt sinkt.

Mittelwert der Differenzen

	0 - 24 Std.	t-Wert		t
Myeloblasten	0,28	3,56	>	3,05
Promyelozyten	1,32	5,43	>	3,05
Myelozyten	1,24	4,42	>	3,05
Metamyelozyten	1,34	5,88	>	3,05
Stabkernige	1,23	6,22	>	3,05
Segmentkernige	1,36	5,46	>	3,05
Eosinophile	0,54	3,42	>	3,05
Monozyten	0,38	1,55	<	3,05

Alle Zellarten - ausgenommen die Monozyten - erfahren mit einer Wahrscheinlichkeit von 99 % eine Verminderung der POX-Aktivität innerhalb von 24 Stunden. Die Monozyten zeigen einen POX-Verlust nur mit einer Wahrscheinlichkeit von etwa 85 %. ($0, 1 < \alpha < 0,2$).

IV. Diskussion:

=====

Die physiologische Funktion der Peroxydasen beruht wahrscheinlich in der Zerstörung des im Zellstoffwechsel entstandenen Wasserstoffsuperoxyds (LEUTHARD 1961). Eine Anzahl von biologisch wichtigen Verbindungen z.B. reduziertes Di- oder Triphosphopyridinnukleotid, Adrenalin, Harnsäure, Thyroxin und Ascorbinsäure können durch das Peroxydasesystem oxydiert werden (KLEBANOFF 1959 zit. nach HIGASHI 1966). Die Funktion der Peroxydase unter pathologischen Bedingungen besteht in der Mitwirkung bei der Entgiftung von Bakterientoxinen und bei der Verdauung von Fremdstoffen innerhalb der Zelle (AGNER 1950 zit. nach RYTÖMAA 1962). Bei der Phagozytose erfährt sie eine Verminderung (MERKER 1968). Bei der toxischen Granulation als Folge der Einwirkung von Bakterienstoffen scheint es sich entsprechend den Angaben von HOFF (1960) und KOSCEWSKI (1968) um ein Zeichen für eine erhöhte Stoffwechselleistung der Zelle zu handeln. In diesem Zustand zeigen die Zellen eine Steigerung der Jodophilie, der Phagozytose und der Phosphatasen (HOFF), aber einen Verlust an POX-Aktivität (KOSCEWSKI).

Eine Fülle von Faktoren beeinflusst die Peroxydasereaktion in vivo und in vitro:

Von Bedeutung sind mit Sicherheit Fieber, Bakterientoxine, Karzinogene, die bei einer Entzündung frei werdenden Stoffe, die Sauerstoffversorgung der Zelle besonders unter Kulturbedingungen und das Alter der Zelle. Auch der Eisenspiegel in Serum hat Einfluß auf die Fermentkonzentration, da ja die Peroxydase ein eisenenthaltendes Enzym ist (HIGASHI u.a. 1967).

Bei der Auswertung unserer Ergebnisse entstand die Schwierigkeit, kein geeignetes Bezugssystem zu besitzen.

Mit der Einteilung der Fermentaktivitäten lehnten wir uns an GRAHAM an. Die Qualität unserer Färbung erlaubte es, 5 Reaktionsstufen zu unterscheiden.

a. Originalausstriche

Der Peroxydasegehalt nahm in unseren Originalpräparaten bei den einzelnen Zellarten folgendermaßen ab:

Eosinophile - Promyelozyten - Myelozyten - Segmentkernige - Stabkernige - Monozyten - Myeloblasten.

HIGASHI (1966) erhob den gleichen Befund, indem er feststellte, daß die SPST (shortest-peroxidase-stain-time s.o.) der Eosinophilen viel kürzer, die der Monozyten viel länger als die der Neutrophilen ist. Entsprechend ergaben auch seine quantitativen Untersuchungen einen unterschiedlichen Gehalt an Peroxydase; aus seinem Zahlenmaterial läßt sich feststellen, daß sich Eosinophile : Neutrophile : Monozyten wie 3: 2 : 1 verhalten. Auch UNDRITZ (1963) beschrieb bei der GRAHAM-KNOLL-Färbung eine schwächere Anfärbbarkeit der Monozyten verglichen mit den Neutrophilen.

Bei den verschiedenen von uns untersuchten Erkrankungen war der POX-Gehalt jedoch z.T. unterschiedlich:

Zwei unserer Patienten (Fall 1 u. 2) konnten vom Blutbild her als Normalfälle betrachtet werden. Mit 3,0 und 3,3 Einheiten lagen die mittleren POX-Indices im oberen Bereich der Werte unserer Patientenauswahl (Abb. 15).

Die höchste mittlere POX-Aktivität zeigte sich mit 3,6 Einheiten bei einer chronischen Lymphadenose (Fall 9). Dies steht im Widerspruch zu den Erfahrungen RYTÖMAA's (1962), der angab, daß die Menge der Granulozyten mit der POX-Aktivität korreliert. Dieser Autor zitierte BARTA, der eine Verminderung der POX in den Granulozyten bei leukopenischen Erkrankungen feststellte.

Mit 3,2 Einheiten als Gesamtperoxydaseindex lag eine Polyzythämie (Fall 8) auch im oberen Bereich unserer Werte. Die Aussagekraft der POX bei der Polyzythämie ist offensichtlich nicht so groß wie die der alkalischen Phosphatase, die beim gleichen Krankheitsbild eine Zunahme erfährt (PIETSCHMANN 1967).

Bei zwei malignen Erkrankungen des lymphatischen Systems und einem Karzinom (Fälle 10, 11, 12) stellten wir POX-Werte fest, die im mittleren Bereich lagen. Die meisten Autoren beschrieben bei Neoplasien eine Verminderung des Fermentgehaltes. KATSUSHIMA (1963 b) fand jedoch in 7 von 13 Fällen abnorm hohe POX-Werte. Er verwies auf die Arbeiten von LOEB und DONINGER (1958), die das Knochenmark der Maus nach intraperitonealer Implantation von Karzinomzellen während des Geschwulstwachstums laufend untersuchten und eine ständig zunehmende POX-Aktivität beobachteten.

Als Ursache für eine POX-Verminderung kam in einem Fall (3) das Vorliegen einer Infektion in Frage. Alle Reifungsstufen der neutrophilen Reihe wiesen diese Verminderung auf. Es bestand eine Leukozytose von 19 000 zusammen mit einer Blutsenkung von weit über 100 nach der 1. Stunde. Die meisten Autoren geben eine Bestätigung dieses Befundes (SEABRA 1955, DENES 1958, STOCKINGER 1930, HAYHOE 1963). Nur nach MÖLLERSTRÖM (zit. nach RYTÖMAA 1962) findet sich bei Infektionen eine erhöhte POX-Aktivität. KATSUSHIMA (1963 b) beschrieb eine unterschiedliche Tendenz der POX-Reaktion; abnorm niedrige Werte fand er bei einem Empyem des Thorax und einem Fall mit rheumatoider Arthritis, extrem hohe Werte in einem Fall mit rheumatischem Fieber.

Bei unseren drei Patienten mit Eisen-Mangelanämie (5, 6, 7)

fanden wir in 2 Fällen stark erniedrigte, im dritten Fall, bei dem aufgrund einer gleichzeitig bestehenden rheumatoiden Arthritis über lange Zeit eine Prednisolonbehandlung durchgeführt wurde, eine relative Erhöhung der POX-Werte. KATSUSHIMA (1963 b) berichtete von einer verminderten Leukozyten-POX in einem Fall von hypochromer Anämie. HIGASHI (1967) u.a. stellten bei hypochromer Anämie im Kindesalter eine Verminderung aller Fe-enthaltenden Fermente, so auch der Peroxydase, fest. Sie fanden dabei eine signifikante Abhängigkeit der Monozyten-POX vom Hb-Gehalt der Erythrozyten. Diesen Befund konnten wir in einem Fall bestätigen (Abb. 14 Fall 6). HIGASHI beschrieb außerdem einen gewissen parallelen Verlauf zwischen Hb-Gehalt der Erythrozyten und POX-Gehalt in den Neutrophilen, den wir in zwei Fällen (5, 6) bei den neutrophilen Stab- und Segmentkernigen bestätigten (Abb. 14). Der POX-Gehalt der Monozyten und eventuell auch der Neutrophilen scheint zu einem bestimmten Grad u.a. von dem aktuellen Fe-Spiegel abhängig zu sein (HIGASHI).

Bei der Bewertung des Falles 6 muß die vor 5 Jahren durchgeführte Röntgenbestrahlung wegen Cystadenoma pseudomucinosum carcinomatosum berücksichtigt werden, die als solche schon eine verminderte Oxydasereaktion verursachen kann (STOCKINGER zit. nach HOFF 1929).

Im Fall 7 lag neben einer Fe-Mangelanämie, einer mit Prednisolon behandelten rheumatoiden Arthritis auch ein toxisches Adenom der Schilddrüse mit einer Grundumsatzsteigerung von + 46 % vor. Nach den Angaben von SEABRA (1955) soll es im Rahmen einer Hyperthyreose zu einer Hypereffusion von Peroxydase aus der Zelle kommen. Wir konnten jedoch eher einen erhöhten POX-Gehalt feststellen wie STOCKINGER, der zeigte, daß die "Umstellung der Zelle zur Oxydasebildung" durch Adrenalin und Thyroxin gefördert wird. Bei der Phagozytose nach Einwirkung von Bakterientoxinen stellte HOFF (1960) einen steilen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs, eine Steigerung der aeroben Glykolyse und der Milchsäureproduktion fest. Bei diesen Zuständen fanden wir eine deutliche Abnahme des POX-Gehalts.

Im Gegensatz dazu gehören die Corticoide zu den Wirkstoffen, die die Emigration, die Stoffwechsel- und Phagozytoseleistung der einzelnen Leukozyten hemmen. Prednisolongabe hat eine starke Verminderung des Sauerstoffverbrauchs der Leukozyten zur Folge und bewirkt bei Anwesenheit von Bakterien eine Hemmung der Phagozytose (HOFF 1960). Entsprechend sollte man bei Patienten, die mit Corticoiden behandelt wurden (Fall 7) normale oder erhöhte, auf keinen Fall stark verminderte POX-Indices erwarten. Diese Annahme wurde in Fall 7 bestätigt und auch unter Kulturbedingungen stellten wir nur einen geringen Fermentverlust fest. Unserer Beobachtung wird jedoch von MAURO und PRATO (zit. nach PIETSCHMANN 1967) widersprochen, die nach ACTH-Gabe einen Abfall der POX beschrieben. Im speziellen Fall (7) ist nicht sicher zu beurteilen, wieweit sich die Eisen-Mangelanämie, die mit Prednisolon behandelte rheumatoide Arthritis und das toxische Adenom der Schilddrüse überlagern.

Bei einer normochromen Anämie (Fall 4) stellten wir mit 2,2 Einheiten einen stark erniedrigten Gesamtperoxydaseindex fest.

Den niedrigsten Gesamtperoxydaseindex in unserer Patientenauswahl fanden wir mit nur 1,1 Einheiten bei einer Panmyelopathie (Fall 13). Die Abhängigkeit des POX-Gehaltes vom aktuellen Serum-Fe-Spiegel (HIGASHI 1960) ließ sich in diesem Fall, bei dem wir einen erniedrigten Fe-Spiegel fanden und somit verminderte POX-Werte erwarten sollten, bestätigen. HEILMEYER und BEGEMANN beschrieben 1951 bei Panmyelopathie eine Verminderung, oft auch einen Schwund des POX-Gehaltes. Auch bei Agranulozytosen stellten HOFF (1960)

und KATSUSHIMA (1963 b) an morphologisch unauffälligen Granulozyten in der Peripherie und im Knochenmark eine mangelhafte oder fehlende POX-Reaktion fest. Nach Angaben dieser Autoren ist eine Zunahme der POX-Positivität in den einzelnen Granula als erstes Zeichen für eine spontane Ausheilung anzusehen.

Zusammenfassend ergibt sich, daß unsere Befunde über den POX-Gehalt der myeloischen Zellen bei den einzelnen Krankheiten im Originalpräparat nicht immer mit den Angaben in der Literatur übereinstimmen. Besonders gehen die Meinungen bzgl. der Neoplasien auseinander.

Die Hypothese, daß die Zelle ihren Fermentgehalt entsprechend ihrem Funktionszustand ändert, der POX-Gehalt also im Verlauf einer Erkrankung quantitativen Veränderungen unterworfen ist, wird durch eine Arbeit von HOFF (1950) gestützt, der bei natürlichen und künstlichen Fieberzuständen den POX-Gehalt der Monozyten des peripheren Blutes über den Zeitraum von 8 Tagen beobachtete. Während der myeloischen und der ersten Hälfte der monozytären Phase des Blutbildes war der POX-Gehalt maximal hoch; mit dem Anstieg der Lymphozyten konnte eine Abnahme der Monozyten-POX festgestellt werden, die in der vollen lymphozytären Endphase ein Minimum erreichte; mit der Normalisierung der Zellverteilung näherte sich auch die Monozyten-POX wieder normalen Werten. Auch bei unseren Fällen hatten die Ausgangswerte der Monozyten-POX mit 0,4 - 2,2 Einheiten eine große Schwankungsbreite.

b. Kulturausstriche

Ein Vergleich des Mittelwertes des Index der Gesamtperoxydase sämtlicher Originalpräparate mit dem Index nach

24 Stunden (Tab. 14) zeigte einen signifikanten Aktivitätsverlust von 2,7 Einheiten als Ausgangswert auf 1,7 Einheiten. Der Verlust an Peroxydase nach 24, 48 und 72 Stunden schwankte erheblich ohne Abhängigkeit vom Ausgangswert (Abb. 1-13). Ein auffallend starker Verlust konnte bei den Fällen 10, 11, 12, 13 beobachtet werden (Neoplasien, Panmyelopathie). Dabei ist zu betonen, daß bei Fall 13 der Ausgangswert mit nur 1,1 Einheiten bereits extrem niedrig lag. Einen POX-Schwund sämtlicher Zellarten bereits nach 24 Stunden fanden wir bei Fall 12. Ein Fehler in der Färbetechnik ist bei diesem Fall mit Sicherheit auszuschließen, da sowohl das Originalpräparat 12 als auch eine weitere Serie mit 4 Präparaten den gleichen Färbebedingungen zur gleichen Zeit unterworfen wurden und beide pox-positive Zellen zeigten.

Bei den einzelnen Zellarten stellten wir ein unterschiedliches Verhalten fest. Die wenigen schwach pox-positiven Myeloblasten erfuhren in den meisten Fällen nach 48 oder 72 Stunden einen totalen Verlust der POX. Auch der Kurvenverlauf der späteren Reifestufen der Neutrophilen wies einen Fermentverlust in vitro auf; dabei verliefen die Kurven annähernd parallel. Von allen Zellen der Neutrophilen nahmen die Promyelozyten während der gesamten Beobachtungszeit entsprechend ihrem Ausgangswert etwas höhere Werte ein verglichen mit den reiferen Formen. Im Laufe von 72 Stunden fanden wir bei den Segmentkernigen bis auf den Fall 12, bei dem alle Zellen ihre Aktivität verloren, in keinem Ausstrichpräparat einen völligen POX-Schwund. Dies ist bemerkenswert, da die Segmentkernigen, die wir nach 48 und 72 Stunden beobachteten, nicht die Segmentkernigen des Originalpräparates sein können, da diese nach BOLL (1966) u.a. eine Überlebenszeit von höchstens 2 Tagen besitzen. Die in vitro neu gebildeten Segmentkernigen sind also, wenn auch geringer, mit Peroxydase aus-

gestattet. Der POX-Verlust in Kultur, der von der gesamten neutrophilen Reihe bei den Segmentkernigen gewöhnlich am deutlichsten zu erkennen ist, ließ sich bei der Infektleukozytose mit den niedrigeren Ausgangswerten (Fall 3) erstaunlicherweise nicht nachweisen.

Die Eosinophilen mit der höchsten POX-Aktivität der von uns untersuchten Zellarten zeichneten sich unter Kulturbedingungen durch einen geringeren Fermentverlust aus; nur in zwei Fällen (12, 13) fanden wir bereits nach 24 Stunden einen vollständigen POX-Schwund.

Bei den Monozyten zeigte sich eine fallende Tendenz des POX-Gehaltes nur in 8 von 13 Fällen; vielmehr stieg die Fermentaktivität in den Fällen 1, 2, 3, 6, 7 nach 24 Stunden deutlich an, um im weiteren Verlauf wieder abzusinken.

Über das Verhalten der Peroxydase in der Knochenmarkkultur haben wir in der Literatur keine Vergleichsmöglichkeit. Es ist jedoch bekannt, daß die POX- und Sudanfärbung oftmals die gleichen Elemente anfärben (BRAUNSTEINER u.a. 1963), da die POX-Reaktion zumindest teilweise der Anwesenheit von Fettperoxyden zuzuschreiben ist (STEONER 1960). Obgleich mit verschiedenen Methoden die zytochemischen Unterschiede beider Reaktionen herausgearbeitet wurden (LILLIE u.a. 1953 zit. nach MERKER 1968), soll in Ermangelung von Befunden über die Peroxydase das Verhalten der Lipide in der Kultur (HERTL und THOMAS 1959) mit unseren Ergebnissen verglichen werden. Nach HERTL und THOMAS sind alle Leukozyten in gleicher Weise und zu gleicher Zeit von einer fortschreitenden Verminderung der Lipide betroffen, die nach 24 Stunden beginnt und nach 72 Stunden vollständig ist. Bis auf einen

Fall (12), bei dem bereits nach 24 Stunden nur pox-negative Zellen zu beobachten waren, konnten wir bis 72 Stunden keine Reduktion auf Null feststellen. Selbst nach Kühlung bis zu 6 Stunden fanden wir bei 2 Versuchsanordnungen keinen stärkeren Fermentverlust verglichen mit den Kulturen unter Standardbedingungen.

Das Alter der Zelle spielt für den POX-Gehalt in vitro ohne Zweifel eine Rolle. PIETSCHMANN (1967) konnte bei der Untersuchung von Exsudatgranulozyten und deren Abbauformen, auch wenn bereits Kern- und Plasmaveränderungen vorhanden waren, die meisten Enzyme deutlich nachweisen; nur bei den POX- und Naphthol-ASD-Chlorazetat-Esterase-Reaktionen der Abbauformen fand er gegenüber den Blutgranulozyten eine Verminderung. Nicht nur bei den verschiedensten Erkrankungen, sondern auch bei der Alterung von Zellen fallen die Enzymreaktionen unterschiedlich aus.

Die Reaktion der alkalischen Phosphatase, die in der Diagnostik Bedeutung erlangt hat, und andere Fermente zeigen im Gegensatz zur Peroxydase in vivo bei vielen Erkrankungen eine Aktivitätsvermehrung (PIETSCHMANN 1967). Man muß vermuten, daß der Schwund an Peroxydase durch einen Eingriff in die Synthese und/oder den Verbrauch bedingt ist und zwar im Sinne einer Synthesehemmung oder eines gesteigerten Verbrauchs. SATO (zit. nach HIGASHI 1966) gelang der Nachweis, daß Methylglyoxal, welches häufig bei B₁-Avitaminosen auftritt, einen hemmenden Einfluß auf die POX-Reaktion der Leukozyten ausübt. Die POX-Abnahme unter Kulturbedingungen kann, da die Granulozyten und -blasten häufig bis zu 72 Stunden keine Degenerationszeichen aufweisen, nicht nur als Alterungsprozeß aufgefaßt, sondern muß als Angleichungsvorgang an das im Gegensatz zu den Bedingungen in vivo veränderte Kulturmilieu verstanden werden.

V. Zusammenfassung:

Knochenmark und Koagulumkulturausstriche von 13 Patienten wurden mit Hilfe der Färbung nach GRAHAM-KNOLL auf ihren Peroxydasegehalt untersucht. Der Fermentgehalt der einzelnen Zellarten zeigte sich wie bekannt unterschiedlich. Eine Abhängigkeit des Peroxydasegehaltes der granulopoetischen Vorstufen von verschiedenen Krankheitsbildern wurde gefunden; im Wesentlichen herrschte Übereinstimmung mit den Angaben in der Literatur.

Bei der Kultivierung auf dem Koagulum zeigten alle Zellarten ausgenommen die Monozyten zwischen 0 und 24 Stunden mit einer Wahrscheinlichkeit von 99 % einen Fermentverlust. Nach 48 und 72 Stunden beobachteten wir ein weiteres geringes Absinken der POX-Aktivität besonders bei zwei Erkrankungen des lymphatischen Systems, einem Karzinom und einem Fall mit Panmyelopathie. Nach einer Beobachtungszeit von 24 Stunden betrug der Mittelwert der Summe der Gesamtperoxydaseindices noch 63 %, nach 48 Stunden 55 % des Ausgangswertes.

Die Segmentkernigen, die in der Kultur neu gebildet werden, waren, wenn auch meist vermindert, pox-positiv.

Der Einfluß von kurzfristiger Kälte zeigte keinen Unterschied des POX-Index im Vergleich zu den Standardkulturen.

VI. Literaturverzeichnis

1. Boll, I. Granulopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik Band 17, 1966
2. Braunsteiner, H.,
F. Dienstel u.a. Esterase- u. Lipaseaktivität in den weißen Blutzellen
Acta haemat. (Basel) 30, 334 (1963)
3. Daranyi, J. Die Peroxydase in der Hämatologie
Folia Haemat. (Leipzig) 75, 185 (1958)
4. Denes, S. The peroxidase content of the leukocytes in different ages especially in old age and in different states of health
Z. Altersforsch. 12, 224 (1958)
5. Fieschi, A.u.
G. Astaldi Züchtung des normalen Knochenmarks in vitro
Arch. exp. Zellforsch. 24, 241 (1941)
6. Freifeld, H.u.
A. Ginsburg Über die Herkunft der Oxydasesubstanzen in den Mononukleären Arch. exp. Zellforsch. 7, 493 (1928/29)
7. Graham, G.S. Benzidine as a peroxidase reagent for blood smears and tissue J. med. Res. 39, 15 (1918)
8. Graumann, W.u.
K. Neumann Enzyme 1. Teil In: Handbuch der Histochemie G.Fischer Verl. Stuttg. 1960
9. Heilmeyer, L. u.
H. Begemann Blut- und Blutkrankheiten
In: Handbuch der Inneren Medizin
Bd. II Berlin-Göttingen - Heidelberg: Springer 1951

10. Hennig, N.,
S. Witte u.
O. Strubelt
Enzymatische Untersuchungen über
den Leukozytenzerfall
In: Merker (Herausgeber), Zyto-
und Histochemie i.d. Hämatologie.
Berlin-Göttingen-Heidelberg:
Springer 1963
11. Hertl, M.
Zytochemie der Zellen der akuten
Leukose
Dr. Alfred Hüthig Verlag Heidel-
berg 1966
12. Hertl, M. u.
K. Thomas
Zytochemische Untersuchungen an
Knochenmarkzellen in der Kultur
Folia haemat., N.F. 3,351 (1959)
13. Higashi, O.
The shortest peroxidase stain time
and the mean cellular peroxidase
content of blood leukocytes
Tohoku J. Exp. Med. 89,1 (1966)
14. Higashi, O.,
Y. Sato, H. Takama-
tsu and Oyama, M.
Mean cellular peroxidase (MCP) of
leukocytes in iron deficiency ane-
mia
Tohoku J. Exp. Med. 93, 105 (1967)
15. Hoff, F.
Über den Einfluß von Bakterienstof-
fen auf das Blut
Z. ges. exp. Med. 67,615 (1929)
16. Hoff, F.
Gesetzmäßige Reaktionsfolge der
Leukozyten und monozytäre Phase
Folia haemat. (Leipzig) 69, 239 (1950)
17. Hoff, F.
Über Funktionsänderungen der Leu-
kozyten
Wien. klin. Wschr. 72,495 (1960)
18. Katsushima, N.
A method for quantitative estimation
of leukocyte peroxidase in periphe-
ral blood
Tohoku J. Exp. Med. 78,339 (1963 a)

19. Katsushima, N. Peroxidase content per single myeloid cell and in plasma - its clinical significance in pediatrics Tohoku J. Exp. Med. 79,250 (1963 b)
20. Knoll, W. Das morphologische Blutbild der Säugetiere Z. mikr.-anat.Forsch. 30,116 (1932)
21. Koszewski, B.J. Studies on the toxic granulation of the leukocytes XII. Congr. Intern. Soc. Hemat. New York 1968 S. 33
22. Leder, L.-D. Der Blutmonozyt Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik Bd. 23 1967
23. Leuthard, F. Lehrbuch der physiologischen Chemie Walter de Gruyter Verlag 1961
24. Merker, H. Cytochemie der Blutzellen In: Handbuch der Inneren Medizin Band II, 1. Teil: Blut- und Blutkrankheiten. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1968
25. Mielke, H. Untersuchungen über die oxydativen Fermente der Leukozyten Klin.Wschr. 46, 2201 (1925)
26. Mitsui, T. and S. Ikeda NAS-benzidine reaction of blood cells - new simple peroxidase staining method using nickle-ammonium sulfate Okaj.Fol.Anat.Jap. 23, 331 (1951)
27. Moschkowski, Sch. Zur Vereinfachung der "Oxydase"-Darstellung in Blut- und Exsudatausstrichen, Gewebekulturen usw. Münch.med.Wschr. 76,1800 (1929)

28. Moschkowski, Sch. Simultane Giemsa-Benzidin-Färbung
Ein weiterer Beitrag zur Vereinfachung der "Oxydase"-Darstellung
Münch.med.Wschr. 77,403 (1930)
29. Pietschmann, H. Zyto- und biochemische Untersuchungen zur Enzympathologie der
neutrophilen Granulozyten und ihrer
Vorstufen Verlag Brüder Hollinek,
Wien 1967
30. Rohr, K. Das menschliche Knochenmark
Stuttgart, Thieme-Verlag 1960
31. Rytömaa, T. Role of peroxidase activity of neutrophils and eosinophils in kinetics
In: Proc. VIII.Congr. Europ. Soc.
Hemat., Basel: S.Karger 1962 (23)
32. Sasaki, M. Influence of fixatives upon the peroxidase staining
Okaj. Fol.Anat. Jap. 23, 193 (1952)
33. Sato, A. and S. Sekiya A simple method for differentiation of myeloid and lymphatic leukocytes of human blood
Tohoku J. Exp. Med. 7, 111 (1926)
34. Sato, A. Peroxidase-negative neutrophils in Arakawa-Higashi's syndrome, in encephalitis Economo, and in "healthy brothers"
Tohoku J. Exp. Med. 87, 94 (1965)
35. Seabra, P. Oxidase and lipase of leukocyte
Ann. N.Y. Acad. Sci. 59,1022 (1955)
36. Siebert, W. Klinische Hämatologie
Urban & Schwarzenberg 1950

37. Stegner, H.E. Topochemische Untersuchungen zur Differenzierung oxydativer Aktivitäten in Gewebsleukozyten der Rattenhaut
Acta histochem. (Jena) 10, 122 (1960)
38. Takikawa, R.u.a. Biochemical properties of the isolated neutrophilic granules of leukocytes
In: Proc. VIII. Congr. Europ. Soc. Hemat., Basel: S. Karger 1962 (23)
39. Tsukamoto, K. Study on the influence of temperature upon the peroxidase reaction of blood cells
Okaj. Fol. Anat. Jap. 24, 89 (1952 a)
40. Tsukamoto, K. Experimental study on the peroxidase reacting granules in the blood cells
Okaj. Fol. Anat. Jap. 24, 347 (1952 b)
41. Undritz, E. Hämatologische Tafeln Sandoz
Nürnberg Sandoz A.G. 1952
42. Undritz, E. Die Peroxydasereaktion und ihre praktische Bedeutung
In: Merker (Herausgeber), Zyto- und Histochemie i.d. Hämatologie, Berlin-Göttingen, Heidelberg: Springer 1963
43. Undritz, E. Die Modifikation III der Peroxydasereaktion nach Graham-Knoll zum Nachweis von Auerstäbchen und Nukleolen
Schweiz. Med. Wschr. 95, 1479 (1965)
44. Undritz, E. The anomaly of Alius and Grignaschi: The hereditary-constitutional peroxidase defect of the neutrophils and monocytes
Blut 14/3, 129 (1966), Ref. in Exc. Med., Sec. 25 Nr. 978 (1967)

45. Winkler, F. Der Nachweis der Oxydasen in den
Leukozyten mittels der Dimethyl-
paraphenylendiaminreaktion
Folia haemat. (Leipzig) 4, 323
(1907)

Literaturangaben zur statistischen Auswertung:

46. Hengst, M. Einführung in die mathematische
Statistik und ihre Methoden
B I-Hochschultaschenbücher
42/42 a 1967
47. Kreyszig, E. Statistische Methoden und ihre
Anwendung
Verlag Vandenhoeck und Ruprecht,
Göttingen 1965
48. Haseloff, O.W., Kleines Lehrbuch der Statistik
H.-J. Hoffmann Walter de Gruyter Verlag 1968
49. Documenta Geigy Wissenschaftliche Tabellen 1962

Frau Priv. Doz. Dr. med. Irene B o l l möchte ich
für die Überlassung des Themas und das stete Interesse
am Fortgang der Arbeit herzlich danken.

Herrn Dipl.Chem. Dr. Hans L e c h e r t, Universität
Hamburg, danke ich für wertvolle Ratschläge bei der
Abfassung des statistischen Teiles.

L e b e n s l a u f

=====

Am 3. September 1942 wurde ich als Sohn des Arztes Ulrich S c h w e i h o f e r und seiner Ehefrau Irmgard geb. Frahm in Oranienburg geboren. Nach vierjähriger Grundschulzeit in Velten bei Berlin besuchte ich von 1953 bis zum Abitur 1962 das Gymnasium Hohenbaden in Baden-Baden. Zum SS 1962 immatrikulierte ich mich an der medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin. Nach einjährigem Studium an der medizinischen Fakultät der Universität Wien kehrte ich zum WS 1965/66 an die Freie Universität Berlin zurück, an der ich im März 1968 das Staatsexamen bestand.

Seit Mai 1968 bin ich als Medizinalassistent tätig.

